

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

AUTUMN 1977
VOL. 20 NO.3

目 次

巻 頭 言

「わかる」……………江上不二夫…1

報 文

GC-MS による抗酸性細菌の超高級
脂肪酸(ミコール酸)分子種の分析
……………矢野郁也…2

ミクロ観察とX線分析……………
……………丸野重雄
原 行一 鈴木 叶 藤井良次…6

解 説

H-5010/H-7010 形日立走査電子像観
察装置……………
渡部忠雄 砂子沢 成人 篠原 実…11

H-300 形日立普及形電子顕微鏡の低
倍率広視野について……………
窪添守起 佐藤 恒 小内俊男…15

260-10/260-30形 日立赤外分光光度
計……………石川 信
倉橋 徹 泰地義雄 井上 克…18

トピックス

835 形 日立高速アミノ酸分析計……………20

巻 頭 言

U.D.C. 001.8

「わかる」

江上 不二夫*



長い間大学の教師をしていた。その間、自分の専門担当分野の内外の学術誌に目を通し、それを自分の講義・研究にとりいれる。これはあたりまえのことである。

ところが、実はそれは容易なことではない。その専門分野にもよるだろうが、私の場合、率直に言って、世界の学問の進歩に追いつけないのである。新しい雑誌を手にする。そこに発表されている論文のうち果してどれだけ「わかる」といえるだろうか。

戦前、私が30歳前後の頃、私は英米独仏などの生化学の専門雑誌をほとんど理解できたように思う。戦後、再び海外の文献が読めるようになった頃、私は30代の後半であった。海外の進歩には目をみはるものがあり、感激をもって読んだが、数年の断絶にもかかわらず、やはりほとんど全部がわかったように思った。

ところが、1950年代、ことに1955年頃から事情が急に変ってきた。新しい雑誌を手にするたびに、理解できる論文の占める割合が減るのをひしひしと感じた。それは確かに一つには、この専門分野の進歩が急速になり、学問の様相が変革しつつあったことにもよるが、やはり私自身の頭脳の老化がそれと時をあわせて始まり、進歩についていけなくなったのである。自分の担当分野の海外の一流雑誌の中の論文が半分も理解できないようでは大学教授の資格は到底ない、などと考え、ときには口にしながら、多少のいらだちを覚えながら、60歳の定年まで東大に勤めた。東大は一律に60歳定年であるが、このような進歩の速い分野では、大学院担当教官の定年は50歳、学部専門学課指導は60歳、そして、実は新しいことがわからなくなったという自信喪失とともに、しかし基礎を教えることは未だ若い人以上にできるという自信もあって、教養課程は65歳定年にしたらよい、と考えたり、ときには口にしたりもした。

そして、今は大学ではなく民間研究機関に勤めている。そこでは、私が属しているささやかな研究室で行われている特殊な研究に直接関係のない論文なんかはわからなくてもよいのだ。そういうものは無視すればよい。私は今和やかに研究を楽しんでいる。

こうなると不思議なもので、何となく余裕ができたためか、または第三者の立場から見れるようになったためか、読んだ論文や聞いた報告、講演が「わかる」ということはどういうことなのかを、考えるようになった。

いってみれば、結論は極めて当り前のことである。理解はその程度により3段階に大別される。つまり、(1)わからない、(2)わかったような気がする、(3)本当に

* (株)三菱化成生命科学研究所 所長、理博



わかった、の3つである。ところが、「わからなければならない」という立場にあった大学教授時代には、この区別をあいまいにしていた——正確に言えば、区別を明確にすることを無意識的に避けていた——ように思う。

そして、今から見れば「わからない」に入るようなことも、それが学界で高く評価されているようなものであれば、適当に簡略化して講義に入れたりもしていたし、ことに、(2)の「わかったような気がする」と(3)の「本当にわかった」とは全く区別もしていなかったようにさえ思う。

ところが、今は、(1)の「わからない」はそのことを明確にしたうえで無視すればよい。わかりもしないものを著書や論文に引用したりするのはむしろ非良心的である。ただ、わからないから無視するのだということを忘れてはいけない。

また、(2)の「わかったような気がする」というのは、本当にはわかっていないのだ。確かに、それを紹介したり、受け売りしたりすることはできる。話題にもできる。しかし、それは要するに、それに納得させられているだけである。実は、この程度の理解では、それを批判し、さらに発展させるとか、自分自身の研究にそれを取入れて自分の研究の発展に資することはできない。その意味で、今の私は(2)の「わかったような気がする」ことにも関心はない。そ

して今は、(3)の「本当にわかった」ことにだけ関心がある。それは自分の研究に有効に生かされるからである。

こう書いてきて、私ははたと気がついた。これはきっと反論されるだろう。このように私が考えるようになったのは、既に知識欲が衰え、研究の第一線から退いて、ただ楽しみに狭い領域の研究をしているからだ。

私はこの批判にあえて反対しない。私がいいたいのは、ここに述べた理解の3段階を明確にしたうえで、知識をすべて「本当にわかった」という段階にまで高める努力をなぜ若いときにしなかったのか、という反省である。このことを今の若い研究者に考えていただきたいというのが私の念願である。

振り返って、もっと広くわれわれの日常生活を見ると、その中に何と「わかったような気がする」程度の知識が多いことか。そしてそれが教養という名で尊ばれているのである。それは私たちの生き方を向上させる「本当にわかった」知識ではない。しばしば日本の現在の教育は知育偏重だといわれる。実はこれは知育偏重どころではなく、「わかったような気がする」程度の知識を詰め込んでいるに過ぎない。真の知育こそ現在最も重んぜられなければならないのである。

報 文

U.D.C. 543.544.42.084.83:543.51

547.296:547.9]:576.852.2

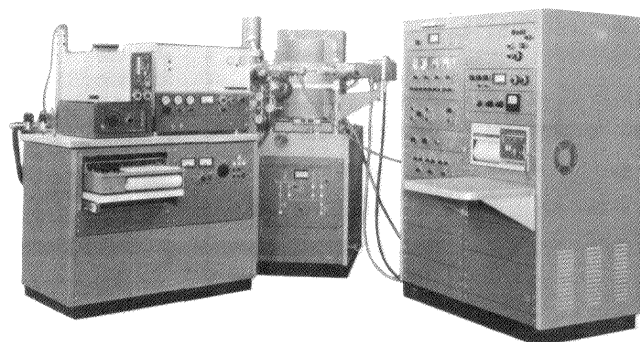
GC-MSによる抗酸性細菌の超高級脂肪酸(ミコール酸)分子種の分析

1. 緒 言

ミコール酸は、Mycobacteria を初めとする各種抗酸性細菌に特異的に分布する超高級分枝脂肪酸で、 $C_{20} \sim C_{90}$ の広範囲にわたる炭素数を有する α 分枝、 β ヒドロキシ脂肪酸である。

従来熱に対する不安定さから、ガスクロマトグラフィ(GC)による単一分子種の分離とその解析は行われていない^{1,2,3,4,5)}。一方、ミコール酸の構造は、菌種により異なるのみならず、これを含む各脂質の種々の生理活性(例えば、毒性やアジュバント活性など)とも密接な関連があることが予想され、最近ミコール酸を含む抗酸菌細胞壁骨格や結核菌の毒性糖脂質“コードファクター”に抗腫瘍性の存在することも知られて来た^{6,7)}。我々はこのような生理活性の解析や生合成の研究を行うために、ミコール酸の単一分子種の構造解析と定量が必要と考えられたので、Mycobacteria と類縁性の深い各種抗酸性細菌について検討を始め、一部その結果については既に報告した^{8,9)}。本報では、さらに長鎖の $C_{58} \sim C_{68}$ ミコール酸の分離と解析について検討

矢野 郁也*



RMU-6MG形 日立ガスクロマトグラフ質量分析計

を行い、これらのミコール酸が、GC-MS法によって極めて容易に各単一分子種の構造が明らかにされるとともに、その平均炭素数の算出により chemical taxonomy への貢献が明らかになったのでここにご紹介する。

* 大阪市立大学 医学部 細菌学 助教授、医博

2. 材料と方法

Nocardia polychromogenes 及びその他の類縁抗酸性細菌は、glucose 1%, peptone 0.5% 及び yeast extract 0.2% を含む液体培地に 30℃, 48~96 時間しんとう培養した後、全菌体を集め、3N-HCl で水解し、総脂肪酸を抽出した。これを benzene: methanol: H₂SO₄ (10:20:1, v/v/v) 中でメチルエステルとした後、Silica gel G (0.5mm) の薄層クロマトグラフィ (TLC) を行い、hexane-diethylether (4:1, v/v) を用いて非極性酸とミコール酸メチルエステルに分離した。薄層プレートからミコール酸エステルを回収し、hexamethyldisilazane-trimethylchlorosilane-pyridine (2:1:10, v/v/v) によりトリメチルシリル (TMS) 化した後、GC-MS (日立 RMU-6MG) に供した。GC カラムは、2% OV-17 を固定相とするガラスカラム (20~50 cm) を用い、キャリアガス (He) 流量 60~80 ml/min, column 温度 280~340℃, セパレータ温度 340℃, イオン源温度 250℃ で分析し、MS は、イオン化電圧 20eV, 加速電圧 3.6kV, trap current 80 μA で分析した。各種抗酸性細菌ミコール酸の平均炭素数は、GC ピーク面積から算出して分類の基準の一つとした (平均炭素数 $\bar{A}_v$, C , Num = Σ [炭素数 × peak area %] / 100)。

3. 結 果

Nocardia のミコール酸は、TLC 上 *Mycobacteria* のミコール酸と比較して一般にやや低い R_f 値を示すが、菌種によってもこれらは若干異なる。また、これらのミコール酸エステルを硝酸銀処理した TLC により分離すると、菌種によって 2~6 個のスポットに分かれ、これらが炭素数はもちろん、二重結合数も種々異なる同族体の混合物であることが示唆された。そこで、*N. polychromogenes* の TMS-ミコール酸メチルエステルを GC-MS により分析すると、図 1 に示すように、6~7 個のピークが検出され、それぞれの質量分析の結果から C₅₄, C₅₆, C₅₈, C₆₀, C₆₂, C₆₄ 及び C₆₆ のミコール酸から成ることが見出された。TMS-ミコール酸メチルエステルのマスペクトルでは、表 1 に示すように、分子イオン [M]⁺ の他、TMS の脱メチルによる [M-15]⁺ イオンが明瞭に検出され、その他、[M-32]⁺, [M-90]⁺ 等のイオンから総炭素数及び二重結合数を容易に知ることができる⁸⁾⁹⁾。

また、C₂-C₃ 間の開裂によって生ずるフラグメントイオン [A]⁺ 及びこれに由来する再配列イオン [A-90]⁺ 及び C₃-C₄ 間の開裂によって生ずるフラグメントイオン [B]⁺ 及び [B-29]⁺ イオンから、それぞれ直鎖部分及び分枝部分の構造を推定することができる。

N. polychromogenes の TMS-ミコール酸メチルエステルの各成分のマスペクトルを図 3 に示す。C₅₄ から C₆₆ までの各分子種についてフラグメントイオン [A]⁺ (及び [A-90]⁺) に相当する主なフラグメントイオンは、各分子種により 28 マスずつ異なり、各々直鎖部分が C₄₀, C₄₂, C₄₄, C₄₆, C₄₈ 及び C₅₀ であることが示された。

一方、フラグメントイオン [B]⁺ (及び [B-29]⁺) は上記の分子種を通じて一定であり、m/e 371 が共通に検出された。

すなわち、これらのミコール酸では、C₂ 位の分枝はすべて共通して C₁₄ であり、分子種の総炭素数は直鎖部分の差を反映していることが明らかとなった。また、分子イオン [M]⁺, [M-15]⁺, [M-90]⁺ イオン及びフラグメントイオン

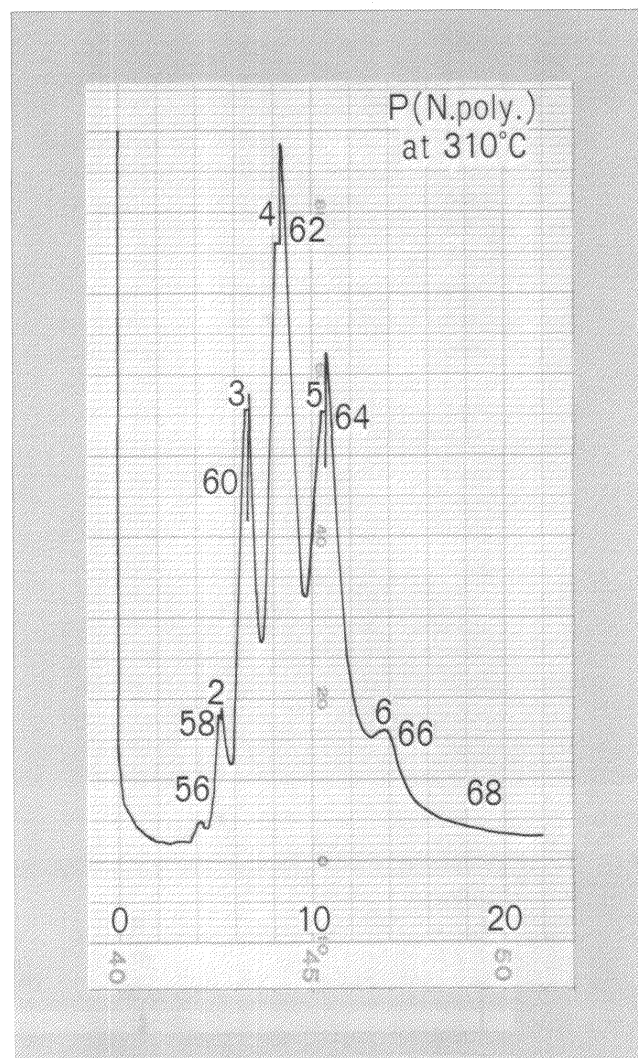


図 1 Gas chromatograms of TMS-methyl mycolate from *Nocardia polychromogenes*

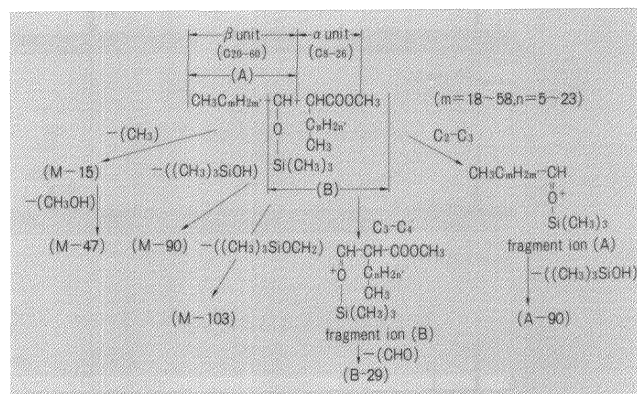


図 2 Fragmentation scheme of TMS-methyl mycolate for electron impact mass spectrometry

表1 Gas chromatographic and mass spectrometric analysis of TMS-methylmycolate from *Nocardia polychromogenes*

Peak	[M] ⁺	[M-15] ⁺	[M-90] ⁺	components	carbon & double bond numbers	fragment [A] ⁺	ions [B] ⁺	straight & branched-chain structure	
P _{5.6}	916	901	826	C ₆₀ H ₁₂₀ O ₃ Si	C _{58:1}	647(:1)	371(:0)	m=38:1	n=13:0
	914	899	824	C ₆₀ H ₁₁₈ O ₃ Si	58:2	645(:2)		38:2	
P _{5.8}	944	929	854	C ₆₂ H ₁₂₄ O ₃ Si	C _{58:1}	675(:1)	371(:0)	m=40:1	n=13:0
	942	927	852	C ₆₂ H ₁₂₂ O ₃ Si	58:2	673(:2)		40:2	
	940	925	850	C ₆₂ H ₁₂₀ O ₃ Si	58:3	671(:3)		40:3	
P _{6.0}	972	957	882	C ₆₄ H ₁₂₈ O ₃ Si	C _{60:1}	703(:1)	371(:0)	m=42:1	n=13:0
	970	955	880	C ₆₄ H ₁₂₆ O ₃ Si	60:2	701(:2)		42:2	
	968	953	878	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₃ Si	60:3	699(:3)		42:3	
	966	951	876	C ₆₄ H ₁₂₂ O ₃ Si	60:4	697(:4)		42:4	
P _{6.2}	998	983	908	C ₆₆ H ₁₃₀ O ₃ Si	C _{62:2}	729(:2)	371(:0)	m=44:2	n=13:0
	996	981	906	C ₆₆ H ₁₂₈ O ₃ Si	62:3	727(:3)		44:3	
	994	978	904	C ₆₆ H ₁₂₆ O ₃ Si	62:4	725(:4)		44:4	
P _{6.4}	1026	1011	936	C ₆₈ H ₁₃₂ O ₃ Si	C _{64:2}	757(:2)	371(:0)	m=46:2	n=13:0
	1024	1009	934	C ₆₈ H ₁₃₀ O ₃ Si	64:3	755(:3)		46:3	
	1022	1007	932	C ₆₈ H ₁₂₈ O ₃ Si	64:4	753(:4)		46:4	
	1020	1005	930	C ₆₈ H ₁₂₆ O ₃ Si	64:5	751(:5)		46:5	
P _{6.6}	1052	1037	962	C ₇₀ H ₁₃₄ O ₃ Si	C _{66:3}	783(:3)	371(:0)	m=48:3	n=13:0
	1050	1035	960	C ₇₀ H ₁₃₂ O ₃ Si	66:4	781(:4)	369(:1)	48:4	13:1
	1048	1033	958	C ₇₀ H ₁₃₀ O ₃ Si	66:5	779(:5)		48:5	

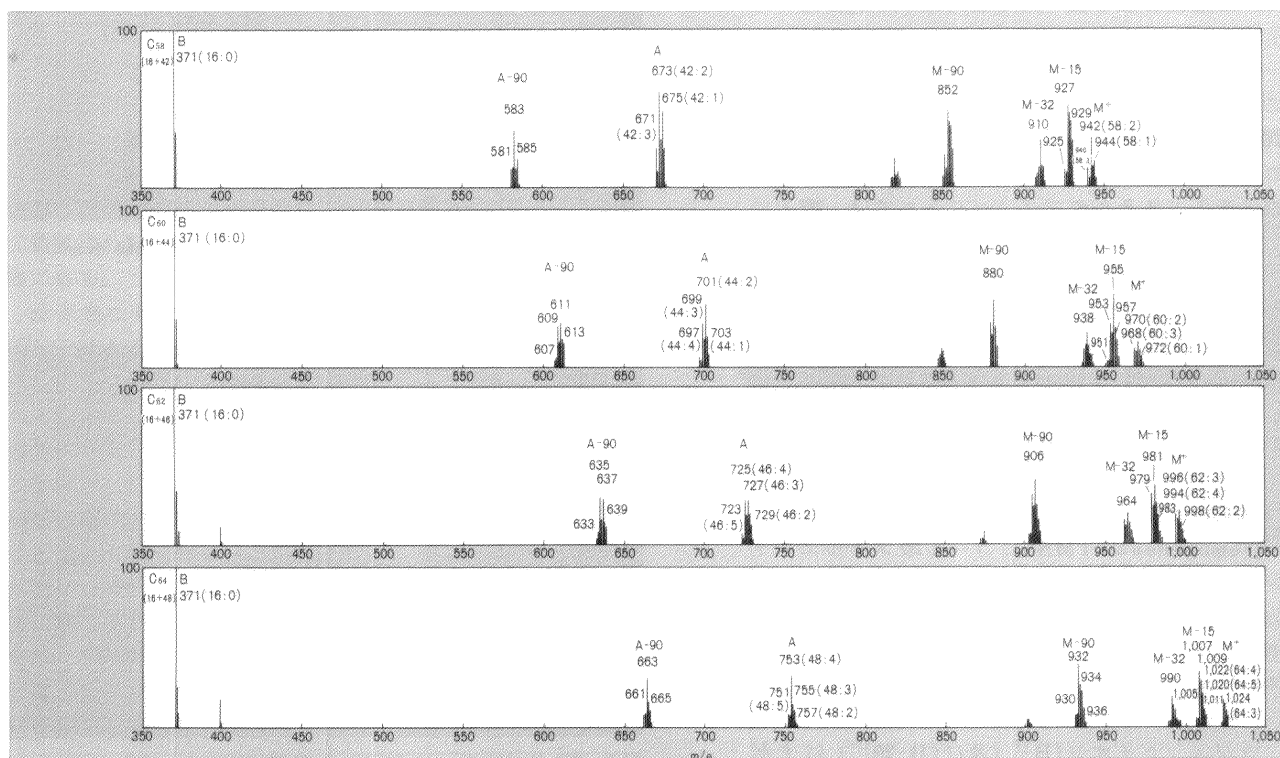
图3 Mass spectra of TMS-methyl mycolate from *N. polychromogenes*From upper to lower: C₅₈, C₆₀, C₆₂ and C₆₄ mycolic acids.

表2 Molecular species composition of mycolic acids from *Nocardia* and related acid-fast bacteria

carbon numbers	13165	13162	N.erythro	13166	N.rubra	N.lutea	N.ast.	N.black	N.poly.	G.bronch
28	4.4	tr	tr	1.5						
29	0.7	tr	tr	0.2						
30	17.8	3.2	0.5	5.8						
31	2.1	2.2	tr	0.8						
32	28.5	20.1	3.1	9.2						
33	1.7	18.3	0.5	0.7						
34	18.8	28.8	12.0	6.8	0.3	tr				
35	1.0	12.4	1.8	0.7	0.1	tr				
36	8.5	10.6	23.2	7.1	1.1	0.5				
37	0.9	2.1	2.7	1.0	0.2	tr				
38	8.2	1.6	23.0	12.6	3.3	1.5				
39	0.5	tr	1.8	2.0	0.7	0.3				
40	5.2	0.5	11.8	17.8	9.9	5.0				
41	0.7		1.1	2.9	1.7	0.6				
42	1.0		6.8	17.8	22.1	11.6				
43			1.1	2.7	2.4	2.0				
44			4.7	8.1	31.6	21.1	tr	0.7		
45			1.1	1.0	1.4	3.1	tr	tr		
46			3.2	1.2	22.2	30.4	1.7	3.2		
47			0.7	tr	0.2	3.2	tr	tr		
48			0.9		2.9	16.1	5.7	8.6		
49					tr	2.7	tr	tr		
50						0.4	19.4	22.9		
51						1.5	tr	tr		
52							44.6	36.0		
53							4.0	tr		
54							16.8	24.3	tr	
55							tr	tr	tr	
56							7.8	4.2	1.5	tr
57							tr	tr	tr	tr
58							tr	tr	9.0	0.5
59									tr	tr
60									27.0	5.9
61									tr	tr
62									41.4	26.4
63									2.3	tr
64									17.0	48.2
65									tr	tr
66									1.9	17.6
67										tr
68										1.4
average carbon No.	33.3	33.5	38.1	41.7	43.3	45.0	51.9	51.6	61.5	63.6
double bond No.	0, 1, (2)	0, 1, (2)	0, 1, (2)	0, 1, 2	0, 1, 2	0, 1, 2	04(5)	04(5)	15	15
α -unit	10~14	10~15	12~16	12~16	12~16	12~16	16(14)	16(14)	16(18)	18(16)
β -unit	18~30	20~30	20~30	20~30	22~34	22~34	32~40	32~40	40~50	40~50

[A]⁺は、いずれも2マスずつ異なる数個の cluster ion を形成しており、GC上分離した各分子種はなお二重結合数の異なる(モノエンからヘキサエンを含む)混合物であること、さらに、フラグメントイオン[A]⁺の解析によりこれらの二重結合は直鎖部分に含まれ、炭素数の多い分子種程その数が増加することも明らかとなった。これらの結果を表1に示す。

一般に、GC上脂肪酸の保持時間を片対数でプロットし、炭素数に対応させると、直線関係が得られるが、ミコール酸の各分子種についても総炭素数と保持時間(対数プロット)の関係はほぼ直線関係を示すことが明らかとなった(図4)。

また、*N. polychromogenes* のミコール酸分子種組成から平均炭素数を計算すると $C_{61.5}$ となり、他の *Nocardia* (例えば、*N. asteroides* の $C_{51.9}$) や分類学的に *Nocardia* に近縁の抗酸菌とされている *M. rhodochrous* IFO 13161 の $C_{41.9}$ と比べて極めて長鎖のものであることが示された。数種の類縁抗酸菌のミコール酸分子種の組成及び平均炭素数を表2に示す。

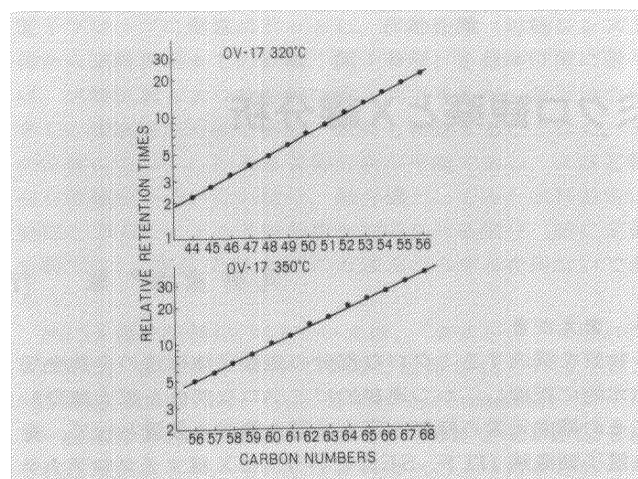


図4 Relationship between relative retention times and carbon numbers of mycolic acid ranging from C_{44} to C_{68} at 320 or 350 °C



4. 考 察

以上の結果から、一定条件下で培養した *Nocardia* 及びその類縁菌のミコール酸組成は各菌種により特徴的であり、*N. polychromogenes* はこれらの *Nocardia* 中最も長鎖のミコール酸 ($C_{54} \sim C_{66}$) を含むことが明らかとなった。一般に、genus *Nocardia* の各菌は分類学的に極めて不均一で、数値分類学的にも多数の subgroup に分けられることが示唆されているが、^{10) 11)} GC-MS によるミコール酸分子種の解析により、このことがさらに明確になるものと考えられる。また一方、GC 上、同一保持時間を有する分子種も各菌株によって直鎖及び分枝部分の構造の異なる組合せから成り、これら各分子種の GC-MS による詳細な構造解析は、菌の分別同定に極めて有益な情報を与えることが明らかとなった。このような GC 上同一保持時間を示す、*M. smegmatis*, *Gordona bronchialis* 及び *N. polychromogenes* の C_{62} ミコール酸分子種を MS により解析した結果を図 5 に示す。

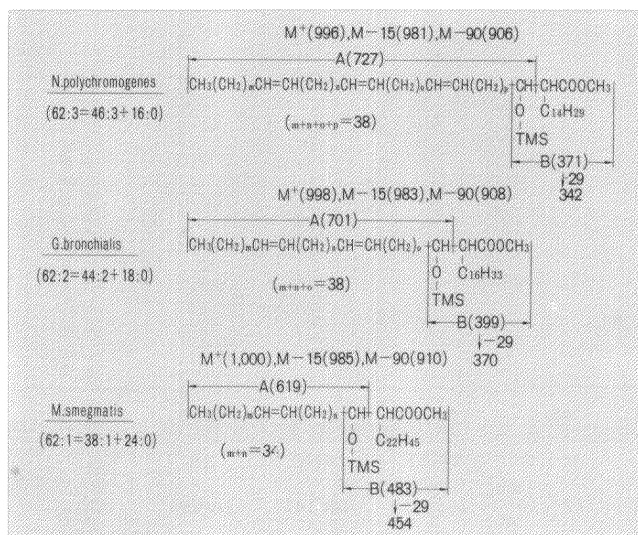


図 5 Comparison of C_{62} molecular species

すなわち、総炭素数の等しいこれらのミコール酸も二重結合数 (*M. smegmatis* は mono 及び dienoic が主であり、*G. bronchialis* 及び *N. polychromogenes* は diene から pentaenoic が主である)、直鎖部分 (*M. smegmatis* が C_{38} が主であり、*G. bronchialis* は C_{44} , *N. polychromogenes* は C_{46} が主である)、及び α 位の分枝 (*M. smegmatis*: C_{22} , *G. bronchialis*: C_{16} , *N. polychromogenes*: C_{14}) が異なり、明らかに 3 種の菌を区別することができた。筆者は、今後さらに長鎖のミコール酸 ($C_{70} \sim C_{80}$) の GC-MS 分析を目標に検討して行きたいと考えている。

参考文献

1. Etemadi, A.H., Okuda, R. & Lederer, E.: Bull. Soc. Chim. Fr (1964) 868.
2. Etemadi, A. H., Miquel, A. M., Lederer, E. & Barber: Bull. Soc. Chim. Fr (1964) 3274.
3. Asselineau, J.: The Bacterial Lipids Edited by E. Lederer (Hermann, Paris, 1966)
4. Lederer E.: Chem. Phys. Lipids, 1 (1967) 294.
5. Goren M. B.: Bacteriol. Rev., 36 (1972) 33.
6. Ribi, E., Anacker, R. L., Barclay, W. R., Brehmer, W., Harris, S. C., Leif, W. R. & Simmons, J., J.: Infect. Dis., 123 (1971) 527.
7. Bekierkunst, A., Wang, L., Toubiana, R. & Lederer, E.: Infect. Immunity, 10 (1974) 1044.
8. Yano, I., Saito, K., Furukawa, Y. & Kusunose, M.: FEBS LETTERS, 21 (2) (1972) 215.
9. Yano, I. & Saito, K.: FEBS LETTERS, 23 (3) (1972) 352.
10. Goodfellow, M., Lind, A., Mordarska, H., Pattyn, S. & Tsukamura, M.: J. Gen. Microbiol., 85 (1974) 291.
11. Alshamaony, L., Goodfellow, M., Minnikin, D. E. & Mordarska, H.: J. Gen. Microbiol. 92 (1976) 183.
12. Alshamaony, L., Goodfellow, M. & Minnikin, D. E.: J. Gen. Microbiol., 92 (1976) 188.

U.D.C. 543.423.8:621.385.833.28

ミクロ観察とX線分析

丸野重雄* 原 行一** 鈴木 叶** 藤井良次**

1. まえがき

物質を構成するミクロな部分の表面立体構造の全貌を三次元的に把握し、かつ連続的にミクロな部分を拡大観察してその構成元素の種類と存在状態を調べる装置として、走査電子顕微鏡 (以下、SEM という) と X 線マイクロアナライザ (EPMA あるいは XMA と略されるが、以下、「XMA」

という) の融合機が開発され、各分野で広く利用されている。

ミクロな観察は SEM で、ミクロな分析は XMA であるという歴史上の過程は、過去に透過形電子顕微鏡と電子回折装置が一体化し発展したのと同様の過程をたどりつつあり、近い将来新しい機能の開発に伴って SEM と XMA が完全に融合することが考えられ、現在はその端緒の時代と言っても過言ではない。



* 名古屋工業大学 材料開発研究施設, 助教授, 理博
** 日立製作所 那珂工場 応用技術センタ

このような視点に立って、融合機として現在の装置を見直してみると、二次電子像(SEM像)では70Å以上の分解能が得られており(通常のタングステン・ヘアピン形フィラメント使用)、波長分散形のX線分光器(以下、「WDX」という)を使用する場合の試料位置(すなわち、X線分析位置)での二次電子像の分解能としては150Å以上が得られている。また、WDX分析によるX線検出感度はX線分析専用の装置と同等の値が得られている。

この報告では最近の融合機がいかなる機能をもち、どのような性能を備えているのかについて述べるとともに、同装置を用いて著者らが行った実験結果を報告する。

2. 観察と分析

2.1 像観察について

SEMが製品化され多方面の研究に利用されてからほぼ10年になるが、一般にSEMは細い電子線束(以下「電子プローブ」という)を形成するための電子レンズの中で、試料に最も近い電子レンズ、すなわち、対物レンズにできるだけ近づけてセットされる。また、試料から発生する二次電子を効率よく検出するため、一般に電子プローブに対し傾斜して置く。図1は対物レンズ、試料などこれらの周辺の関係位置を示す。超高分解能像観察の場合は、試料面を対物レンズ下面から上方へセットする場合もあるが、一般には試料位置Aとして図示した対物レンズ下面より下方に置き高分解能像の観察を行う。いずれにしても、対物レンズの焦点距離を短くし、試料を傾斜することが像観察の場合のひとつの重要な要素である。

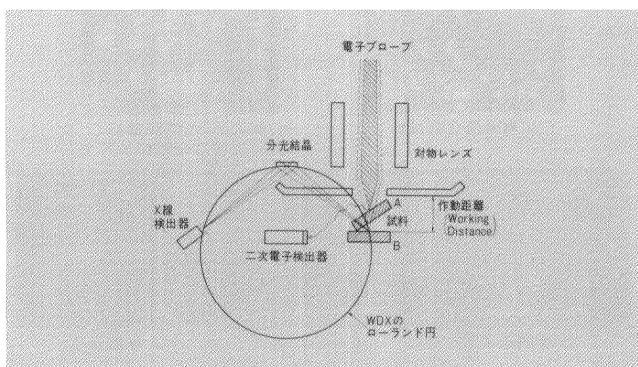


図1 対物レンズに対するWDXと試料の関係

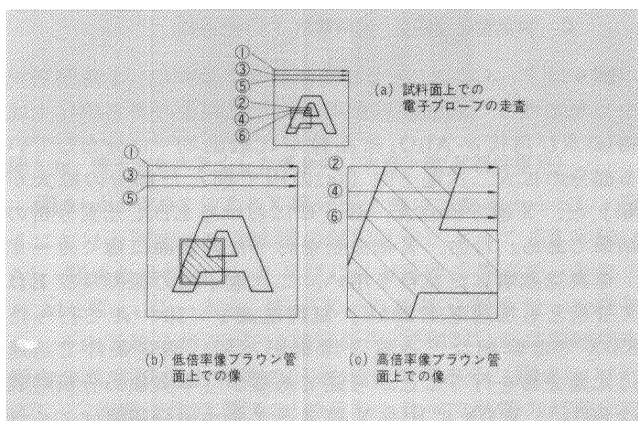


図2 低高倍率像同時表示装置の原理説明図

最近の像観察における新しい特徴は、異なった倍率像を同時に観察する手法である。図2にその原理説明図を示す。図2(a)は試料面上での電子プローブの走査状態を示し、実際に電子プローブは①→②→③→④→⑤→⑥……のように、奇数番号の走査線は広い幅にわたり走査し、偶数番号の走査線は任意に設定された位置に飛び、②、④、⑥のように狭い幅で順次走査する。奇数・偶数いずれの番号の走査の場合でも、二次電子検出器で検出された信号は、増幅され、奇数番号の走査による信号は図2(b)の低倍率像ブラウン管上に、また偶数番号の走査による信号は図2(c)の高倍率像ブラウン管上に明暗像として表示する回路構成になっている。このような手法によって、低倍率像ブラウン管上の枠内の拡大像を同時に別のブラウン管上で詳細に観察でき、かつ枠Fは低倍率像ブラウン管内の任意の位置に移動でき、その枠の大きさも変えられる(すなわち、高倍率像の倍率を変えることができる)。

2.2 分析について

分析位置の選択は、数百倍の倍率をもった光学顕微鏡によって行うのが通例であったが、最近では、数十倍から数万倍の倍率で二次電子像を迅速かつ連続的に観察できるので、その像を利用することが多くなった。超微細部の分析あるいは点分析のためには、二次電子像による位置の設定とその部位がどのような状態であるかを十分把握するのに極めて有効であるが、機械的線分析の場合には、光学顕微鏡を利用するのが有利なときがある。

X線分析の場合には一般に試料面を電子プローブに対し垂直に置く。このことは、物質内でのX線発生領域が電子プローブに対して回転対称の形状となり、特に定量分析に対して理解しやすいからである。高倍率像観察と電子プローブの試料面への垂直入射は、分析面の重要なことからであるが、前節のような試料位置A(図1参照)での観察ではWDXによるX線分析の場合の条件が満たされない。

分析の場合のみ試料位置をBに移動すればよいが、それでは観察像とX線分析との直接的な対応がつかず、かつ比較的高倍率では移動に伴い分析部位を見失うという操作面での実際的な困難が生じる。したがって、当初から試料面を電子プローブに垂直にセットし、作動距離(対物レンズ下面から試料表面までの距離：図1参照)を最適位置に選べば、試料位置Aより分解能は若干低下するが、数万倍の倍率での像観察が可能であり、試料も移動することなく、その位置にセットしたままX線分析が可能である。よほど特殊な像観察を行わない限り、融合機としてみた試料設定は観察とWDXによるX線分析を対応させる限り(特に定量分析では)、現状では上記の方法をとらざるを得ないであろう。

次にX線分析器についていえば、「まえがき」で触れたWDXと、ここ数年来特に米国で活用されているEDX(Energy Dispersive type X-ray spectrometer: エネルギー分散形X線分析装置)がある。WDXとEDXはそれぞれ長短があるが、その主な差異は次のようにまとめられる。

- (1) 分析可能な元素範囲は、WDX では ${}_{4}\text{Be} \sim {}_{92}\text{U}$ 、EDX では通常 ${}_{11}\text{Na} \sim {}_{92}\text{U}$ (最近 Be-windowless 形のもので ${}_{6}\text{C}$ 、 ${}_{7}\text{N}$ 、 ${}_{8}\text{O}$ 、 ${}_{9}\text{F}$ も可能)
- (2) X線検出限界は、WDXがよく通常、数100ppmに対し、EDXでは、数1,000ppm以上。(固溶体試料の場合)
- (3) 定性分析の速さ及び多元素同時分析は、EDXが数十秒から数百秒でよいのに対し、WDXでは1~2時間(高速定性分析装置でも最低20~30分)要し、EDXが速くて容易である。
- (4) 定量分析はWDXでは確立されているが、EDXでは検討段階であった。しかし、昨年から今年にかけて、ピーク・ストリッピング法などの活用により、かなりの精度で分析が可能となりつつある。
- (5) 波長分解能(あるいはエネルギー分解能)は、WDXが5 eV前後であるのに対し(FWHMが $\sim 1 \times 10^{-2} \text{ \AA}$ 程度)のスペクトルであるとする、波長が7~8 Åの特性X線では $\sim 3 \text{ eV}$ 、EDXでは150 eV程度であり、WDXがよい。
- (6) 分析時の試料電流は、WDXで $10^{-7} \sim 10^{-9} \text{ A}$ 、EDXで $10^{-10} \sim 10^{-12} \text{ A}$ 、(EDXでは二次電子像観察条件に同じ)である。したがって、電子線による試料の汚れ(Contamination)及び破損はEDXが少ない。
- (7) EDXは0.1 μmクラスの微粒子からもX線信号が得られ、WDXに比べて電子流感受度は3桁ほどよい。
- (8) 光学顕微鏡はEDXでは全く不要である。
- (9) 保守管理はWDXの方が容易である。

以上の諸点を考慮して、どちらのX線分光器を用いるかは、研究目的によって選択する必要がある。

二次電子像の観察に重点を置き、さらに微小部の $Z \geq \text{Na}$ の元素の迅速定性分析及び元素の二次元分布を広い範囲にわたり分析を行う立場からはEDXがよい。一方、現在では軟X線分析、微小部の定量分析及び状態分析を像観察と並行して行う立場からはWDXがよい。

3. 応用例

前節で述べたいくつかの機能及び特徴に関して、二・三の応用例を示す。

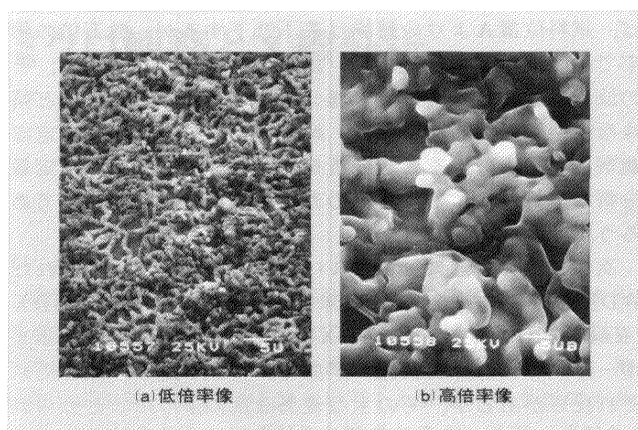


図3 Fe-Cr-Al合金表面に形成された高温酸化皮膜の二次電子像
[(b)は(a)の白枠の部分の高倍率像写真(倍率表示5 UBは倍率5 μmの5倍の拡大を示す)]

図3は古くから電熱用材料として使用されているFe-Cr-Al合金の均質高温酸化皮膜表面の二次電子像写真である。表面研磨したFe-Cr-Al合金(Cr: 24.1wt%, Al: 6.7wt%)を、空气中で1,250°C、45分熱処理することにより、表面に $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ の皮膜を形成したものである。なお、試料にはチャージ・アップを防止し、二次電子の収率をあげるため、Au-Pdを表面に薄く真空蒸着した。図3(b)は、図3(a)の白い枠の部分の拡大写真である。倍率は(b)が(a)の5倍となっている。先に説明した低高倍率像同時表示法によって撮影されているので、従来しばしば問題となる高倍率像写真と低倍率像写真との対応が極めて明確であり、学術写真の発表に有効である。

均質高温酸化皮膜は、合金中のAl原子の表面への拡散と、その酸化によって生成される $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ から成ることがよく知られ、一部SEMによる研究報告¹⁾もあるが、図3(a)より皮膜が複雑に発達した三次元網状アルミナ層により形成されていることがわかる。また、皮膜の最表層で外気と接触している活性部の一部では、角状 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 結晶粒が形成されていく様子が、図3(b)よりわかる。

次に、EDXとWDXによるX線分析の特徴と、それらX線分析条件下での二次電子像を比較した実験例を図4及び図5に示す。

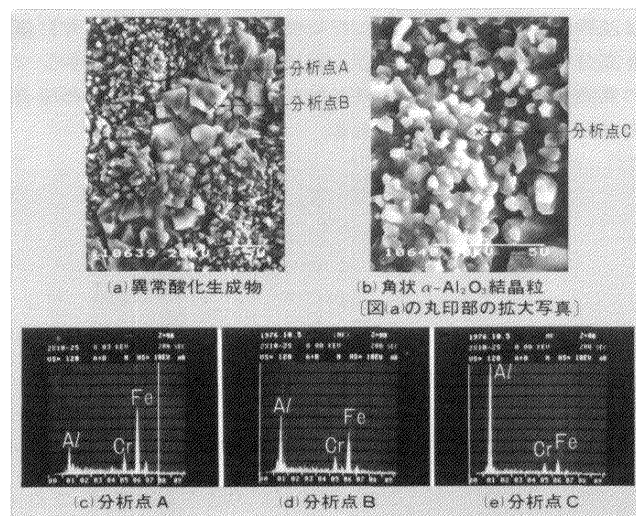


図4 Fe-Cr-Al合金中の異常酸化生成物(a)及び皮膜形成アルミナ結晶粒(b)の二次電子像とEDXによる分析(分析点A、B、C 加速電圧20kV 試料電流 $1 \times 10^{-11} \text{ A}$)

図4はFe-Cr-Al合金の磨き材を1,300°C、1時間空气中で熱処理して形成された高温酸化皮膜中の異常酸化生成物(a)及び角状 $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 結晶粒が比較的均一に分布している部分の拡大二次電子像[(a)の円で囲んだ部分の拡大が(b)]と、X線分析点A、B、CにおけるEDX元素分析の結果である。なお、X線分析を行うため表面に薄くカーボンを真空蒸着した試料を用い、二次電子像の撮影及びEDX分析とも加速電圧20kV、試料電流 $1 \times 10^{-11} \text{ A}$ で行った。EDXでは鮮明な二次電子像撮影と同じ測定条件で迅速に元素分布を行うことが可能であるが(本実験の分析時間は200s)、WDXに比べX線スペクトルの分解能はよくない。

図4より点Aの異常酸化生成物はCrを固溶した鉄酸化物 $\{(Cr, Fe)_2O_3\}$ が主体であり、アルミニウム酸化物との境界に近い点BのそれはAlを相当に含んだ異常酸化物であり、また、点Cの角状アルミナ結晶粒はほとんど純粋な $\alpha-Al_2O_3$ であることがわかる(点Cで検出されたFe及びCrは、アルミナスケールの基底部及び地金属中のFeならびにCrが散乱電子によって励起されて生じたものと思われる)。

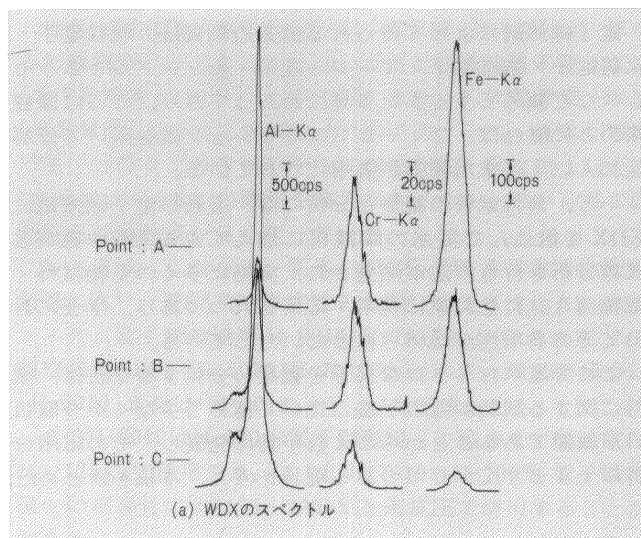


図5(a) WDXのスペクトル

WDXによる分析点A, B, CでのAl-K α , Cr-K α 及びFe-K α , X線分析と、X線分析と同じ条件で撮影した二次電子像[図4(a)に対応]加速電圧 20kV, 試料電流 5×10^{-9} A

Al-K α , Cr-K α , 及びFe-K α の特性X線強度は、各測定点での同一特性X線の最高強度のものを100として規格化して示してある。

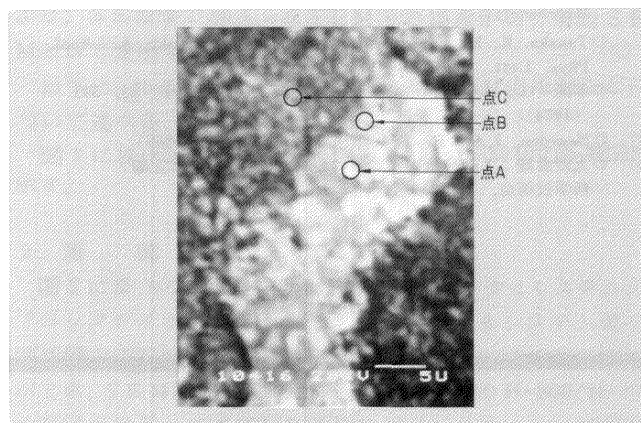


図5(b) 電子流を大きくした場合の二次電子像(試料位置B)

図5(a)はWDXによるX線分析位置に試料をセットし、図4における測定約500倍の試料電流によって(5×10^{-9} A)、図4の分析点A, B及びCに対応する各点で、それぞれAl-K α , Cr-K α , Fe-K α のX線分析を行った結果と、そのX線分析と同一(測定条件)で撮影した高温酸化皮膜中の異常酸化生成物の二次電子像である[図4(a)に対応]。二次電子像は図4(a)のそれと比べて解像力が著しく異なるが、観測された特性X線の強度変化は、分析対象結

晶粒の組成の違いを忠実に表わしている。それゆえ、WDXによる二次元X線像(面分析による元素分布像)はEDXによるそれと比べて、分解能、コントラストとも決して劣るものではない。しかし、WDXでは発生X線から十分な情報を得るために相当量の電子流を必要とし、EDX測定のような十分に絞った微小電子流を用いることができないので、微細粒子の極微小部の分析には注意を要する。

次に試料の状態分析(Chemical Shift: 化学結合状態の分析)には、現在のところ、WDXによる方法しかない。XMAによる合金、酸化物、ガラスなどの状態分析に関してこれまでに多くの報告があるが²⁾、著者らがX-560形日立微小部走査X線分析装置を用いて行った酸化物合金の状態分析の結果を以下に述べる。

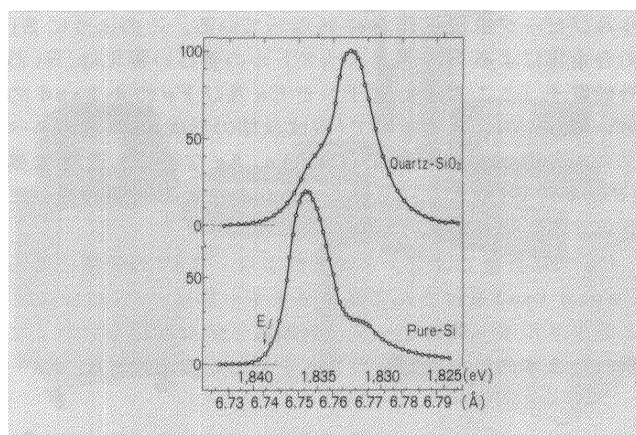


図6 Si単体および石英(SiO₂)のSi-K β スペクトル

図6はpure-Si及びSiO₂のSi-K β スペクトルで、その波長及びエネルギーをオングストローム(Å)と、エレクトロンボルト(eV)でそれぞれ示してある。X線強度は短波長側(高エネルギー側)のバックグラウンドを差引き、スペクトルの最強ピーク値を100として規格化した。スペクトルの位置はpure-Siのピーク位置を、これまでのデータに合わせ6.753 Å (1832.4 eV)³⁾とし、それを基準に他のスペクトルのピーク位置を決定した(図7のスペクトルも同様に行った)。記号Efはフェルミ準位を示す。両スペクトルともローランド円半径200mmのADP結晶を用いた測定と比較すると、半価幅が約1.1倍であったが、プロファイルは極めてよく一致している⁴⁾。四面体構造を有するSiO₂では、Siのp-電子はEfからみて深いレベルにある酸素の外殻電子と結合軌道を形成して1s状態への遷移となるため、Si-K β スペクトルのピーク位置はpure-Siのそれよりも3.4 eV低エネルギー側にシフトし、かつプロファイルも大きく変る。なお、pure-SiのK β スペクトルの長波長側にある小さなふくらみは、K β と考えられ、SiO₂ではそれが6.817 Åに移動し顕著となる(図ではその波長範囲を省略した)。

図7はCu-8.5atom% Si及びFe-10.3atom% Si合金のSi-K β スペクトルである。これらは日立XMA-5を用いて得られた実験結果とよく一致している。pure-Siのスペクトルと比較すると(図6)、スペクトルのプロファイ

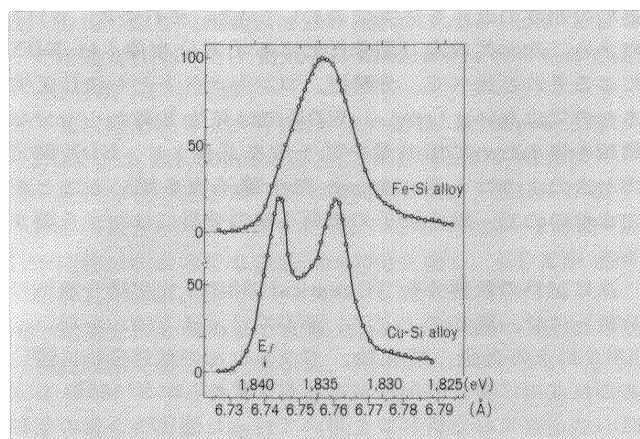


図7 Cu-8.5at%SiおよびFe-10.3at%Si合金のSi-K β スペクトル

ル及びピーク位置が非常に異なっている。このようにSiの合金化によるSi-K β スペクトルの著しい変化は、Siの外殻電子（ここではp-電子）とCu及びFeのd-bandの強い相互作用によるもので（混成状態の形成）、両者のスペクトルの違いは、貴金属（Cu, Au, Agなど）と遷移金属（Fe, Cr, Niなど）におけるd-bandの電子状態の違いに起因するものと解釈される。

Cu-Si合金ではフェルミ準位より -3 eV の位置にあるCuのd-bandをはさんで高エネルギー側ピーク（結合状態）と低エネルギー側のピーク（自由電子的な非結合状態）に割れた2本のピークをもつスペクトルとなる。一方、Fe-

Si合金では、Feのd-bandの中心が E_f のすぐ下にあり、Siのp-電子はすべて結合軌道電子の状態となるため、pure-Siのピーク位置より約 1.0 eV 低エネルギー側にピークをもつ非対称な幅広いスペクトルとなる。

表1は得られたSi-K β スペクトルのピーク位置とスペクトルの半値幅をまとめたものである。酸化及び合金化によって、スペクトルの幅はいずれも大きくなっている。

あとがき

電子線照射によって得られる情報の種類は、吸収電子・反射電子・透過電子・オージェ電子・カソードルミネッセンスなど極めて多くまた多岐にわたっており、さらに像観察のみに限れば、フィールドエミッション銃を用いて分解能 30 Å 以上の常用装置が実用化されている。

一方、薄膜試料の観察と分析には、透過形電子顕微鏡にEDXを組込んで従来の像観察に加えて走査透過像観察とX線分析を行う方法が開発され、実際に多くの生物試料・鉱物薄片試料を対象に利用・応用されつつあり、学会においてその有用性が認められるにいたっている。

ここで述べたミクロな部分を観察し分析する手法は、試料に関する制約が他の手法に比べて極めて少なくかつ取扱いが簡便であることからここ数年特に発展し、その応用分野がますます広がりつつある現状を考え、本稿をまとめた。

参考文献

- 1) ○Tien, J.K. & Pettit, F.S.: Metal Trans., **3**, 38 (1972)
○丸野重雄, 糟谷修身, 西田茂行: 金属学会誌, **40**, 1145 (1976)
- 2) ○White, E.W. & Gibbs, G.V.: Amer. Mineral, **52**, 985 (1967)
○Dodd, C.G. & Glein, G.L.: J. Amer. Ceram. Soc., **53**, 322 (1970)
○Maruno, S. & Fujii, S.: Japan J. Appl. Phys, **9**, 1428 (1970)
○Maruno, S.: Proc. 6th Intern. Conf. X-Ray Optics and Microanalysis
○Tanaka, K. Matsumoto, M. Maruno, S. & Hiraki, A.: Appl. Phys. Lett., **27**, 529 (1975)
○本間一広, 木村隆, 川崎要造, 副島啓義: 分析化学, **23**, 591 (1974)
- 3) ○Bearden, J.A.: Rev. Modern Phys., **39**, 78 (1967)
- 4) ○丸野重雄: X線分析の進歩・4, P. 59 (分析化学会編・科学技術会, 1972)

表1 Si-K β スペクトルのピーク位置(I_{max})と半値幅($I_{\text{max}}/2$)*

試料	ピーク位置	スペクトルの幅($I_{\text{max}}/2$)*
Si	$6.7525 \pm 0.0004 \text{ Å}$ ($1835.7 \pm 0.1 \text{ eV}$)	$0.0133 \pm 0.0008 \text{ Å}$ ($3.6 \pm 0.2 \text{ eV}$)
SiO ₂	$6.7650 \pm 0.0004 \text{ Å}$ ($1832.4 \pm 0.1 \text{ eV}$)	$0.0148 \pm 0.0008 \text{ Å}$ ($4.0 \pm 0.2 \text{ eV}$)
Cu-8.5Si	$6.7445 \pm 0.0004 \text{ Å}$ ($1838.0 \pm 0.1 \text{ eV}$)	$0.0259 \pm 0.0008 \text{ Å}$ ($7.0 \pm 0.2 \text{ eV}$)
	$6.7605 \pm 0.0004 \text{ Å}$ ($1833.6 \pm 0.1 \text{ eV}$)	
Fe-10.3Si	$6.7569 \pm 0.0004 \text{ Å}$ ($1834.7 \pm 0.1 \text{ eV}$)	$0.0207 \pm 0.0008 \text{ Å}$ ($5.6 \pm 0.2 \text{ eV}$)

*FWHM(Full Width at Half Maximum)に同じ

訂正

前号, Vol.20 No.2 (52/7月号)に下記の如きミスプリントがありました。謹んでお詫びの上、訂正致します。

○訂正箇所 1頁 巻頭言 本文 下から10〜11行目

○訂正前 った。また、検査の中央化は、検査部における多数の検体の処理を意味するところより、検体採取、その保存、検査部への引渡しの際に問題を生じてきた。ある物質は、そ

○訂正後 ったとしても、かつ、それが他の因子、例えば、血清を対象とする検査において、溶血がその結果に影響を及ぼすものとしても、医師はそれを考慮に入れて検査結果

解 説

U.D.C. 621.385.833.2.087

H-5010/H-7010形 日立走査電子像観察装置

渡 部 忠 雄* 砂子沢成人* 篠 原 実**

1. 緒 言

近年、透過電子顕微鏡（以下、「TEM」という）は、単なる形態観察にとどまらず、同じ試料での透過電子像（以下、「STEM像」という）との比較、また、二次電子像（以下、「SEM像」という）、X線マイクロアナリシス、極微小領域の電子回折などの情報が得られる走査電子顕微鏡（以下、「SEM」という）の機能を備えたトータルシステム電子顕微鏡の市場要求が強くなっている。

日立では、このほど、従来のHSE-2形 走査電子像観察装置に代り、性能及び操作性を大幅に向上させたトータルシステム電子顕微鏡用 H-5010/H-7010形 日立走査電子像観察装置（以下「H-5010/H-7010形」という。単独の場合は、「H-5010」または「H-7010」という）を完成した。

このH-5010はH-500形電子顕微鏡との組合せで加速電圧25～125kVで使用でき、また、H-7010はH-700形電子顕微鏡との組合せにより75～200kVと高電圧で使うことができる。

これらのトータルシステム電子顕微鏡は、TEM本来の機能、性能を損なうことなく、ワンタッチでTEMモード、SEMモードの切換ができ、また、ユーセントリックサイドエントリーゴニオステージとの組合せにより、試料の目的に応じて、傾斜、回転することができる。

特に、H-5010/H-7010形は、強励磁対物レンズの使用により、SEM像で30Å、STEM像で15Åと高分解能SEMとして使用することができる。

以下に、H-5010/H-7010の原理、特長及び応用例などについて述べる。

図1にH-500形電子顕微鏡に取付けたH-5010の外観図を示す。

2. 原 理

図2にH-500/H-700形電子顕微鏡のトータルシステムのブロックダイヤグラムを示す。このトータルシステム電子顕微鏡のTEM/SEMモード切換はワンタッチで行うことができ、TEMモードでの各レンズは通常のH-500/H-700の電子光学系とすべて同じ条件になり、スキャン、制限視野、ズーム、ワブラーなど本来の機能がそのまま使用できる。

また、SEMモードでは、照射系（C₁、C₂、OBJ.）を縮小レンズ系として働かせ、試料面上の電子線径を10Å程度に絞る。

ここで、H-5010/H-7010形のSEMモードと通常のSEMとの最も大きな相違は対物レンズの使い方にある。通常

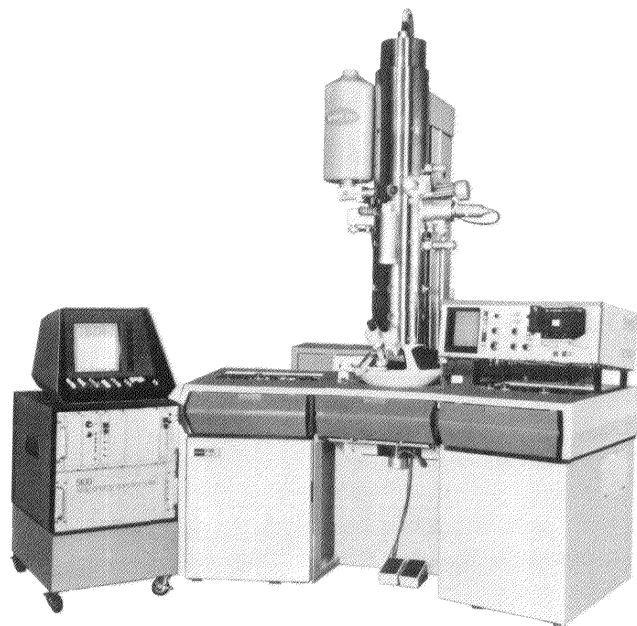


図1 H-5010形 日立走査電子像観察装置を装着した
H-500形日立電子顕微鏡トータルシステム

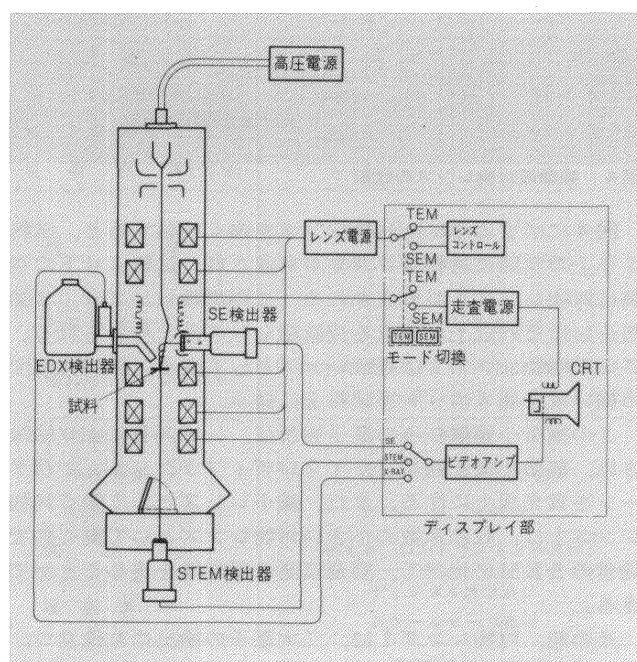


図2 H-500/H-700形日立電子顕微鏡トータルシステムのブロックダイヤグラム

* 日立製作所 那珂工場 電子装置設計部

** 日立製作所 那珂工場 応用技術センタ



のSEMでは、図3に示すように、試料を対物レンズの磁極外に置き、対物レンズを比較的弱励磁で用い、H-5010/H-7010では、1つの対物レンズでTEM像、STEM像、SEM像を観察する必要性から、試料を対物レンズの磁極内に置き、対物レンズを強励磁で用いる。

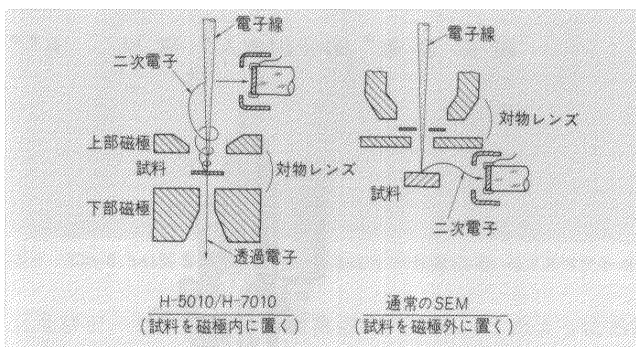


図3 対物レンズと試料の位置関係

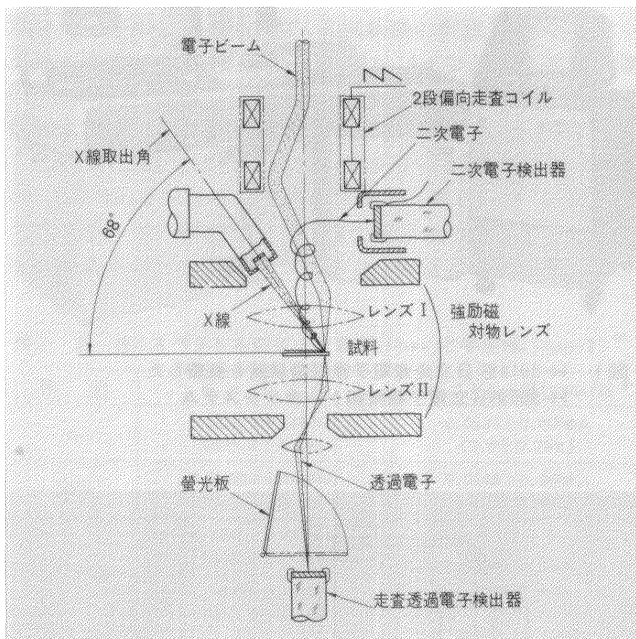


図4 強励磁対物レンズの役割

図4に示すように、対物レンズを強く励磁すると、試料より上の空間に対物レンズIが形成され、試料より下の空間に対物レンズIIが形成される。この対物レンズは、2個あるいはそれ以上から成る複数個レンズ系と考えられる。ここで対物レンズIは縮小レンズとして働き、数10 A程度の細い電子線スポットを試料上に結ぶ。

この極微小領域からの電子回折は、レンズIIにより結像され、極微小電子回折（マイクロディフラクション）パターンを蛍光板上に作る。また、縮小レンズとして働く対物レンズIは、収差係数の小さい対物レンズとして働くので、通常のSEMに比べて、容易に高分解能像を得ることができる。

その他、対物レンズIは、二次電子の検出にも役立つ。すなわち、対物レンズの強い磁場内に置かれた試料より放出される二次電子（数eV）は、ほとんどこのレンズ磁場で

捕獲され、電子線の光軸に沿って回転しながらレンズ上方に運び出される。

このように、対物レンズの磁場を利用して効率のよい二次電子検出ができるため、通常のSEMに比べて質のよい高分解能像を得ることができる。

SEM像の結像原理については、通常のSEMと同じであり、ここでは省略する。

3. 機能及び特長

H-5010/H-7010形は、その構成がコンパクトであるにも拘らず次のような機能や特長を内蔵している。

(1) 2段偏向による平行走査方式

試料面上の電子ビームの走査は図4に示すように強励磁対物レンズの前焦点を偏向支点とした平行走査方式を採用している。したがって、電子線が常に試料へ垂直に入射するので、試料位置の違いによる倍率誤差が少なく、また、マイクロディフラクションを行うとき、同視野内を同一回折条件で観察できる利点がある。

(2) TEM/SEMモード切換

従来、TEM/SEMモードを切換える場合に繁雑であった諸操作、例えば、

- 走査信号のON⇄OFF
- 電子光学軸の軸合せ
- レンズ電流値の設定

などの操作は、H-5010/H-7010形では、すべてTEM/SEM切換スイッチに連動して自動的に行われる。したがって、モード切換時の明るさのニゲや視野ズレがほとんどなく、TEM像、SEM像がワンタッチ操作で観察できる。

また、TEM像、SEM像の倍率、ピント、明るさ、視野位置は、加速電圧切換スイッチに完全連動しているので、加速電圧を切換えても変わらない。

(3) T/S方式による高いX線取出角

図5に示すように、T/S方式（TOP X-Ray take off/Side Entry Specimen）の採用でX線取出角が68°と大きく、また、X線検出器を光軸と試料の傾斜軸で張られる面上（O-A-B-C）に配置しているので、試料が水平または傾斜しても、X線取出角は変わらない。

そのうえ、強励磁対物レンズの磁場で散乱電子をトラップするため、高加速電圧でもバックグラウンドが極めて低く、効率のよいX線分析ができる。

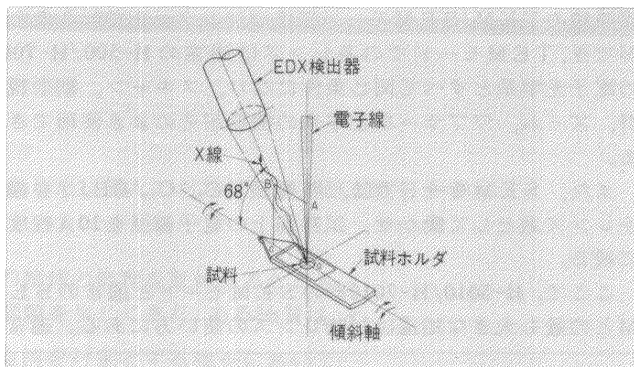


図5 T/S方式によるX線検出



(4) 使い易いディスプレイパネル

ディスプレイ装置は、テーブルトップ方式で、H-500/H-700形電子顕微鏡のTEMモードの操作と同じようにテーブルに手をのせたまま楽に操作できる。

また、操作つまみが少なく、操作が簡単である。図6にH-5010/H-7010形のディスプレイ部のパネル配置図を示す。

大形の観察ブラウン管は、パネル面より奥に傾斜させて配置しており、外部からの光がブラウン管面に反射せず、長時間の観察にも疲れな配慮がされている。

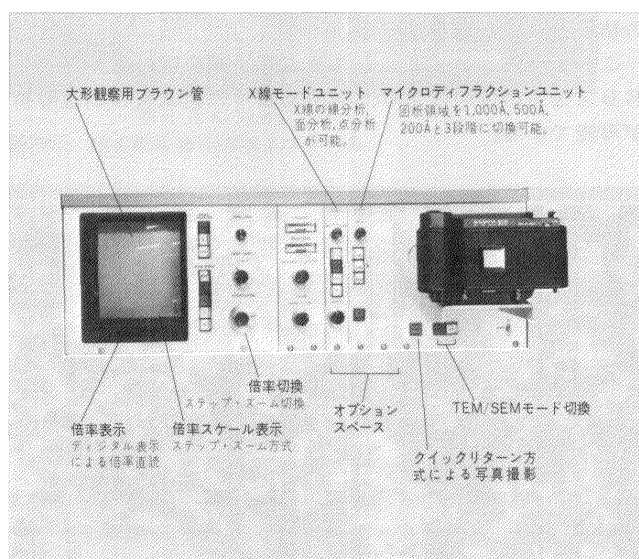


図6 H-5010/H-7010のディスプレイ部

その他、ディスプレイ装置には、次のような新機能が多く内蔵されている。

(a) クイックリターン方式による写真撮影

PHOTOスタートスイッチを押すことにより、ブラウン管上のラスタは、像観察状態から自動的に像の信号(STEM像あるいはX線像)に適した撮影スピードにセ

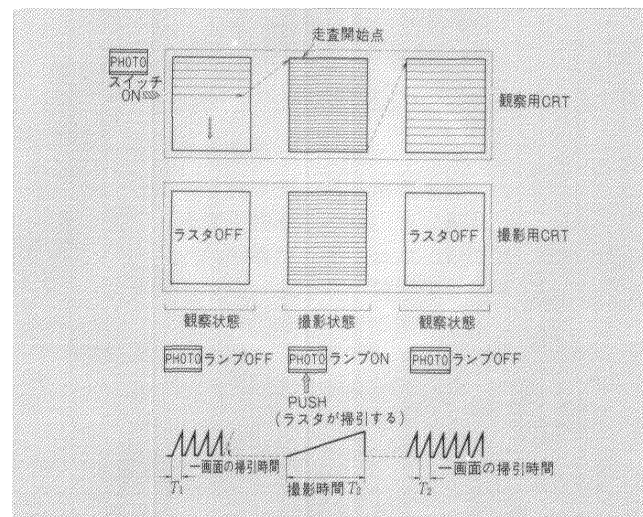


図7 クイックリターン方式による写真撮影の原理

ットされる。撮影が終了すれば再び元の走査速度に戻り、シャッタ動作をしないで、連続撮影ができる。図7にクイックリターンの動作原理図を示す。

(b) ステップとズーム方式による倍率切替

1つの倍率切替モードで、 $100\times\sim 300,000\times$ まで任意の倍率を自由に選択することができる。

(c) 倍率スケール表示

ブラウン管上に観察している像の倍率がスケールで表示され、倍率のステップズーム切替に連動している。

(d) X線分析とマイクロディフラクション

エネルギー分散形X線検出器(EDX)とX線モードユニットの組合せにより、極微小領域のX線分析が可能である。さらに、マイクロディフラクションユニットを併用することにより、極微小回折像と対比させたX線マイクロアナリシスが可能になる。

4. H-5010/H-7010形の仕様比較

H-5010とH-7010の大きな相違点は使用する加速電圧である。

H-5010は加速電圧25kVから最高125kVで、通常のSEMと同じように、生物、金属などの表面観察の他に薄膜試料でのSTEM像の観察と幅広い用途をもっている。

H-7010は、加速電圧75~200kVで使用でき、金属薄膜や厚い生物試料のように透過しにくい試料の観察や、マイクロディフラクションなどによる構造解析などの研究に好都合である。

表1にH-5010/H-7010形の標準仕様の比較を示す。

表1 H-5010, H-7010形の仕様比較

項目	形式	H-5010	H-7010
電子顕微鏡本体		H-500	H-700
加速電圧		25, 50, 75, 100, 125kV	75, 100, 150, 175, 200kV
分離能	走査透過電子像(STEM)	15 Å	30 Å
	二次電子像(SEM)	30 Å	50 Å
	透過像(TEM)	4.5 Å	4.5 Å
倍率		$100\times\sim 300,000\times$ 連続(加速電圧に対して一定)	
走査偏向方式		2段偏向平行走査方式	
電氣的イメージシフト		$\pm 5\mu\text{m}$ (加速電圧に対して一定)	$\pm 3\mu\text{m}$ (加速電圧に対して一定)
モード	TEM/SEMモード	ワンタッチ切替	
	PHOTOモード	クイックリターン方式	
	SIGNAL SELECTOR	STEM, SE, X-RAY	
露出計		明るさ、コントラストメータ付	
倍率表示		デジタル表示及びスケールマーカ表示	
検出器		透過電子検出器 二次電子検出器	

5. 応用例

5.1 二次電子像の高分解能撮影例

磁気テープ上に金蒸着を行った例で、金蒸着膜の構造が鮮明に見られる（図8）。

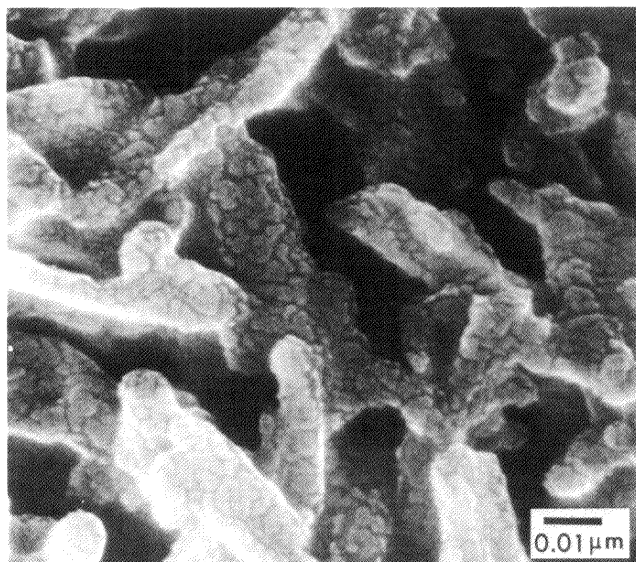


図8 二次電子像の高分解能の撮影例

試料 磁気テープ
加速電圧 75kV
装置 H-7010

5.2 重油燃焼生成物、すすの二次電子像

B重油燃焼ボイラ煙道から採取したすす0.1~0.3μm程度の微小なカーボン粒子を観察したもので、表面の微細な凹凸が見分けられる（図9）。

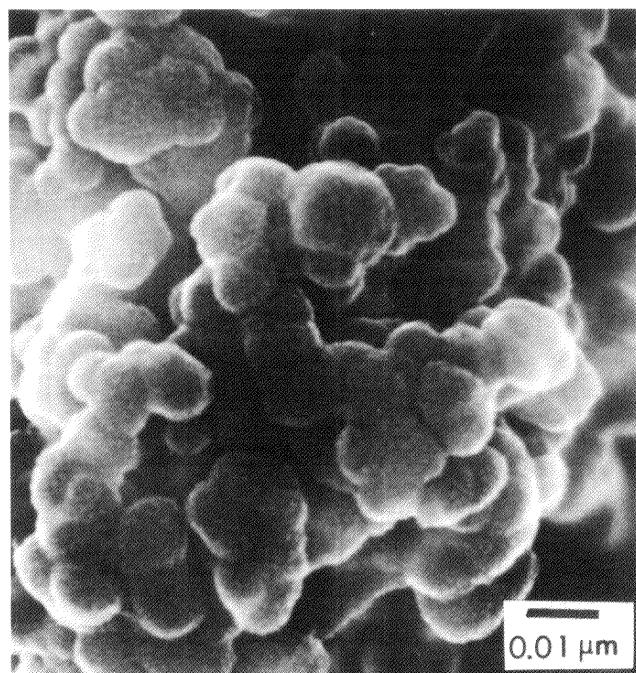


図9 重油燃焼生成物（すす）の二次電子像

試料 重油燃焼生成物 すす
加速電圧 50kV
装置 H-7010
試料ご提供 産業医学総合研究所 河合清之先生

5.3 2Cr-1Mo-0.13C鋼のM₂C析出物の組成分析

1,350℃で1時間、500℃で168時間焼鈍後、M₂C析出物の組成分析を行った例である（図10）。

サンプリングは、析出物の検鏡と組成分析の目的から抽出レプリカ法を用いている。

電子回折により、析出物がM₂C系であることを確認したうえ、次にエネルギー分散形X線分析器（EDX）を装着したH-500トータルシステム電子顕微鏡を用い、大きさ200~1,000Åの析出物について、Mo、Cr、Feの定量分析を行った。

その結果を表2に示す。この結果は析出残渣の化学分析の結果とよく一致している。

このように、トータルシステム電子顕微鏡の電子回折とEDX分析の併用により、析出物個々の組成及び構造解析が可能である。

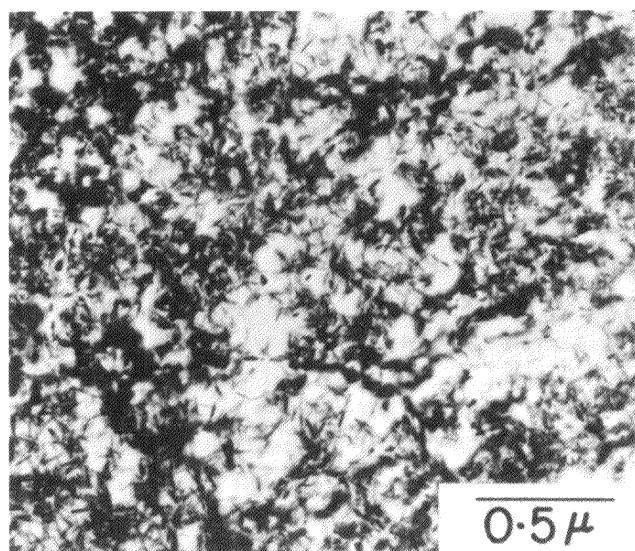


図10(a) 抽出ブリカのTEM像

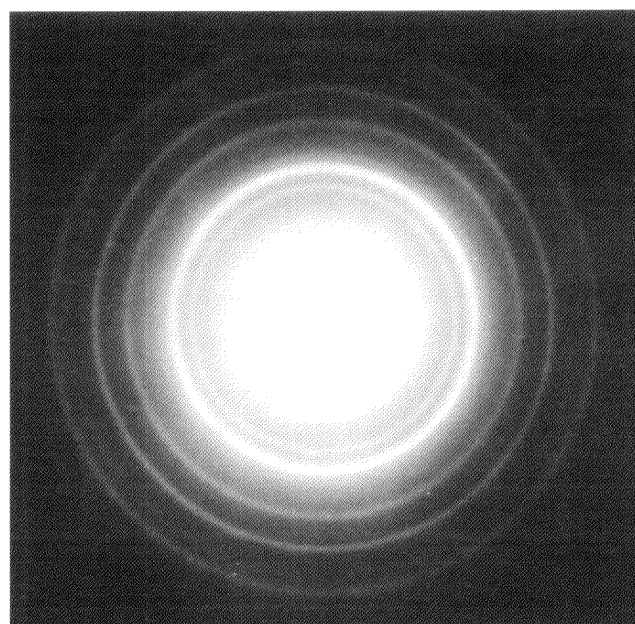


図10(b) 電子回折パターン

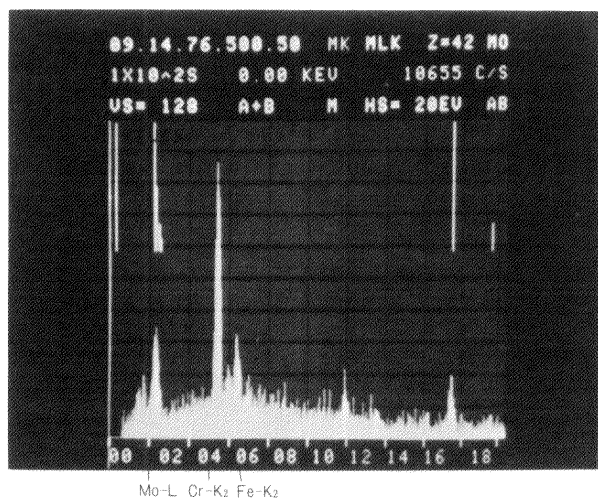


図10(c) Mo-C析出物のEDXスペクトル

表2 EDXによる組成分析

		EDXの測定値(カウント)			含有原子組成比		
		Mo-L	Cr-Kα	Fe-Kα	Mo	Cr	Fe
析出物の測定数	1	1,780	1,656	257	65.6	29.1	5.4
	2	1,727	1,579	186	66.8	29.1	4.1
	3	1,820	1,869	349	61.3	30.0	6.7
	4	1,656	1,993	344	59.1	33.9	7.0
					63.2	30.5	5.8

抽出残渣の化学分析結果

Mo:Cr:Fe=60:34:6

U.D.C. 621.385.833.22

H-300形 日立普及形電子顕微鏡の低倍率広視野について

はじめに

電子顕微鏡は、高倍率・高分解能を最大の特長として、生物、医学をはじめ多くの研究分野に広く応用されてきたが、光学顕微鏡と比べてあまりにも高倍率であることと試料作成法の違いなどのため、光学顕微鏡との間には、大きなギャップがあった。近年、このギャップを埋めるものとして電子顕微鏡がもつ優れた解像度及び多様な機能を損うことなく、極低倍率の領域でも高倍率と同等の解像度が得られる電子顕微鏡が望まれている。

H-300形 日立普及形電子顕微鏡(以下、「H-300形」という)は、このような新しい研究分野に即応するため加速電圧75kV、最高倍率10万倍、保証分解能4.5Åなどの高性能に加えて、数々の新機能が追加されている。また、投射レンズは超小形化を実現し、対物レンズ強励磁のまま高性能な低倍率広視野像が得られるユニークな結像系をもった電子顕微鏡である。以下に本装置の主な特長である高性能低倍率広視野について述べる。

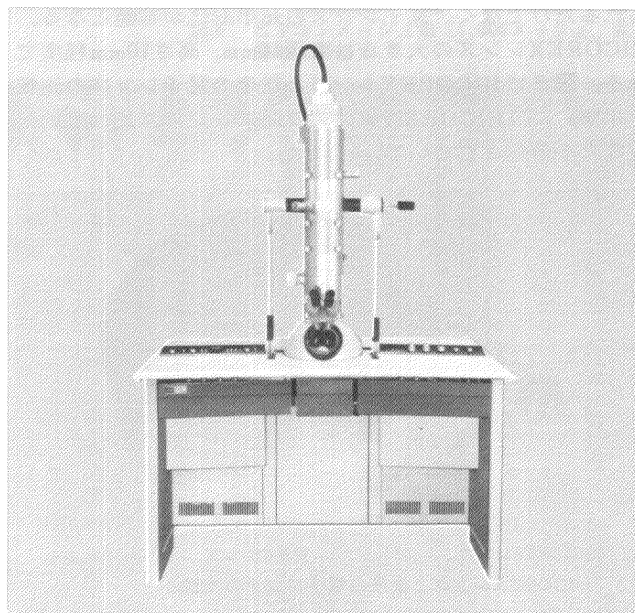
1. 低倍率広視野の条件

電子顕微鏡本来の高倍率、高分解能を保ったまま、高性能な低倍率広視野像を得ることは、互に相反する要素をもち、技術的に困難なことであった。

従来の電子顕微鏡は、低倍率広視野像を得るために対物レンズをOFFにして中間レンズで焦点を合わせるか、対物レンズの励磁を弱くして(長焦点にする)試料位置をその都度変える方法がとられていた。しかし、これらの方法では操作が複雑になり、像質も満足すべきものでなかった。

H-300形では、次の3つの条件を満足した状態で、容易

窪添守起* 佐藤 恒* 小内俊男* 小笹 進**



H-300形 日立普及形電子顕微鏡

に高性能な低倍率広視野像が得られる。

- (1) 対物レンズを強励磁で使用する。
- (2) 低倍率と高倍率で試料位置を変える必要がない。
- (3) 対物絞りが後焦点面に入っている。

小さな絞りを使用しても、視野がカットされないため、広視野が得られる。さらに、小さな絞りが使用できるため、低倍率でもコントラストの高い像が得られる。

図1に高性能な低倍率広視野を可能にしたH-300形の結像系の原理図を示す。

* 日立製作所 那珂工場 電子装置設計部

** 日立製作所 中央研究所 主任技師

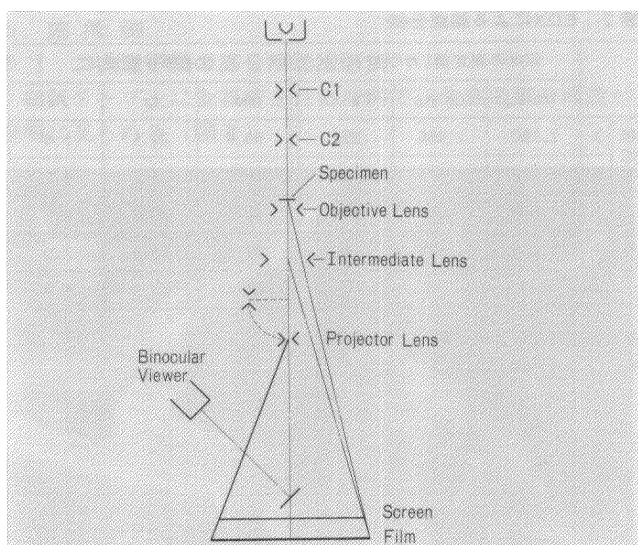


図1 結像系の原理

2. 超小形電子レンズの開発

最近実用化された希土類コバルト磁石（HICOREX：日立金属製）は、従来使われているアルニコ系磁石に比べて、最大エネルギー積が数倍大きく、 $(BH)_{max} = 10 \sim 26 \text{ MG Oe}$ が得られる。この磁石を電子レンズとして用いる（以下、「HICOREXレンズ」という）と、単に強励磁のレンズが得られるだけでなく、電子レンズの超小形化が可能となる。HICOREXレンズの大きさは直径16mm、高さ10mm程度である。図2にHICOREXレンズと従来の電子レンズの比較を示す。このHICOREXレンズは従来レンズに比べて約 $\frac{1}{10}$ 程度に小形化されている。

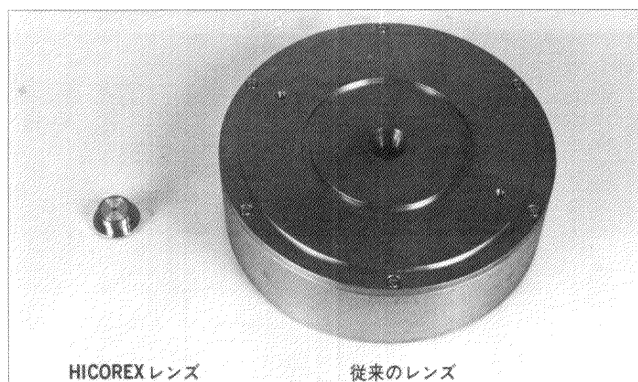


図2 HICOREXレンズと従来の電子レンズの比較

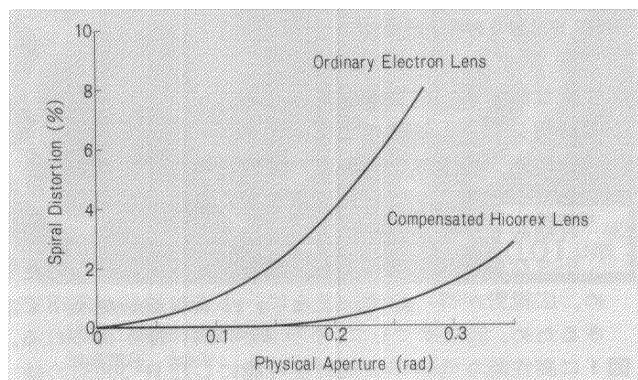


図3 三磁極レンズの歪収差

HICOREX磁石を2個組合せて三磁極レンズとすると、歪収差、回転収差のないHICOREXレンズが得られる。図3に三磁極レンズの歪収差を示す。

この三磁極レンズの有効視野径は、従来のコイル励磁レンズの2倍以上である。加速電圧75kVで約3mmの焦点距離をもたせることができる。図4に三磁極レンズの構成と加速電圧、焦点距離の関係を示す。

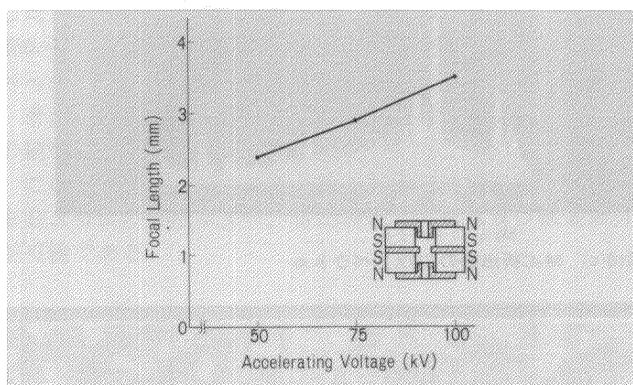


図4 三磁極レンズの焦点距離

H-300形は、この三磁極レンズを投射レンズに採用した。投射レンズの有効視野径が大きいと投射レンズからフィルム面までの距離を短くすることができ、電子レンズそのものの小形化と合せ、装置全体としても大幅な小形化が可能になった。

3. 低倍率広視野実現の方法

H-300形は、下記に示すユニークな結像系の構成により、低倍率広視野像の観察を実現した。

2,000以下の極低倍率は、対物レンズ1段及び対物、中間レンズの組合せによる2段系で得られるようにした。この場合、投射レンズで視野をカットしないように光軸上から投射レンズを外すように結像系を構成している。これは、強力な永久磁石（HICOREX）を使用した超小形レンズを投射レンズに採用することにより可能になった。

図5に投射レンズの切換によって1及び2段系となる機構を示す。投射レンズは真空外から容易に光軸上に出し入れできるように構成されている。

また、3,000倍以上の倍率は投射レンズを光軸上にセットし、3段レンズ系として、最高倍率10万倍まで得られる。

対物可動絞りはレンズの後焦点面にセットされているため、250倍の低倍率で直径 $30 \mu\text{m}$ の絞りを使用しても視野をカットしない。したがって低倍率でもコントラストの高い像が得られると同時に、250倍から10万倍までの倍率変化において対物絞りを出し入れする操作をする必要がない。

さらに、2,000倍以下の極低倍はプッシュボタンで瞬時に像が切換えられるので、ワンタッチ操作で極低倍（250倍）から高倍率（10万倍）まで観察可能となった。

図6に対物レンズ1段拡大方式で得られた250倍のビデオメッシュ像を示す。メッシュ像から無歪の様子が容易にわかる。また、図7に2段レンズ系で撮影した生物切片の低倍率広視野像を示す。従来何枚もの写真を撮り、継ぎ写真を作っていたのが、極低倍率で1枚の写真を撮るだけで



すむようになった。

さらに特筆すべき新機能は、投射レンズを光軸上から外すとそこに大きな空間ができるが、この空間を利用してSEM用の対物レンズとSEM用試料ホルダを装着すると本格的な走査像観察装置となり、TEM、SEM両者の機

能を合せもった複合電子顕微鏡となることである。

以上、H-300形の高性能低倍率広視野について記述したが、H-300形の特長、機能に関しては稿を改めて報告する。この装置が各応用分野において高性能電子顕微鏡として研究者各位のお役に立てば幸いである。

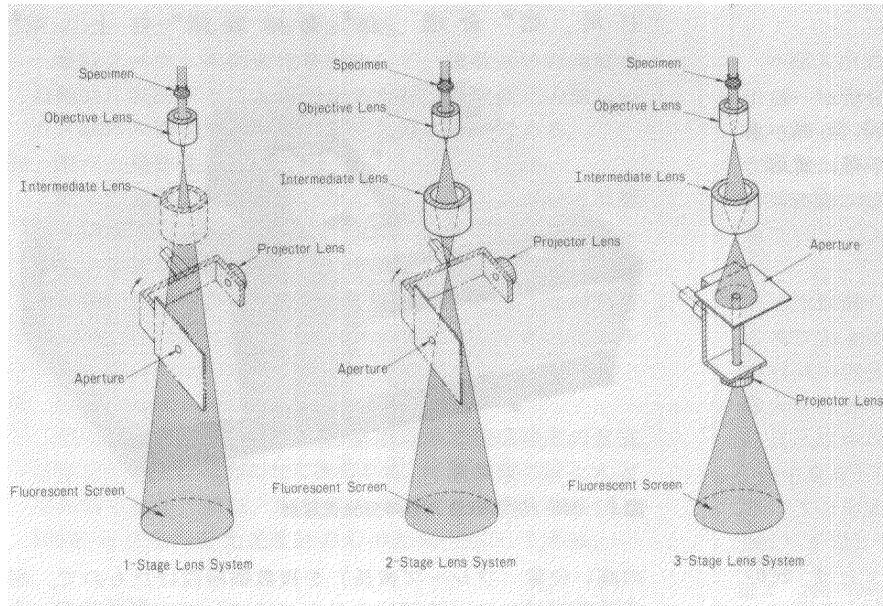


図5 投射レンズの機構

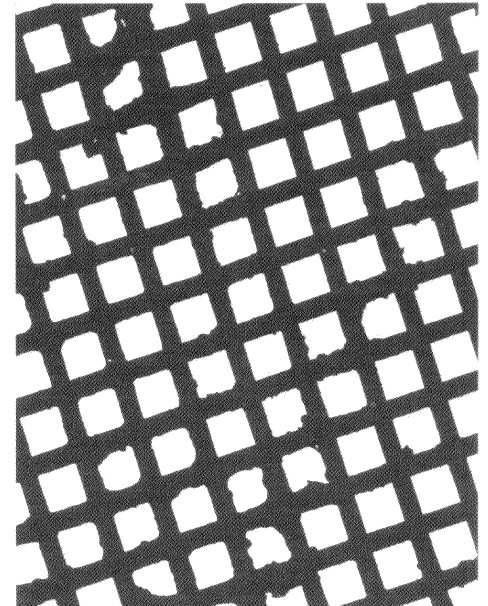


図6 ビデコンメッシュ像（1,000メッシュ、直接倍率 250倍）

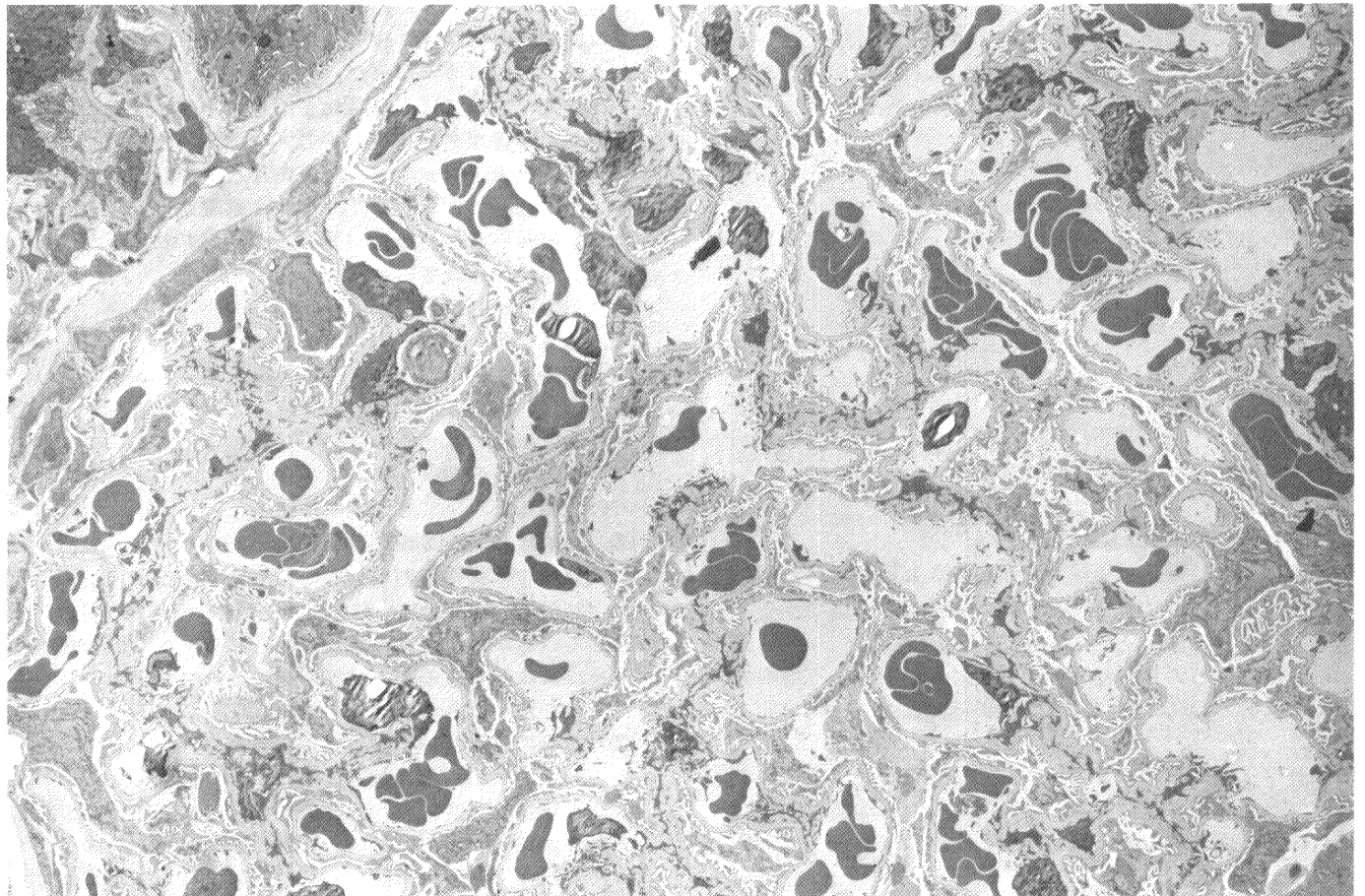


図7 低倍広視野像（試料：マウスの腎臓、直接倍率 700倍）

260-10形/260-30形 日立赤外分光光度計

石川 信* 倉橋 徹* 泰地 義雄* 井上 克*

1. はじめに

赤外吸収スペクトルの解説による定性定量分析が一般化されてから、赤外分光光度計の普及は目覚ましいものがあり、国内においては、1960年にローコストで手軽に使用できる普及形赤外分光光度計が市販されるとともに相当数の需要が起り、特に有機化合物の分析³⁾には欠くことのできない装置として定着してきた。

装置としては、 $4,000\sim 650\text{cm}^{-1}$ ($2.5\sim 15\mu\text{m}$) 領域用と、 $4,000\sim 400\text{cm}^{-1}$ ($2.5\sim 25\mu\text{m}$) 領域用の2機種が主流であるが、1965年にプリズム分光器から回折格子分光器に移行してから以後は性能的なレベルアップはなく、分散形分光器としては現在成熟期²⁾にある。こうした情勢の中で、日立赤外分光光度計だけは、日立中央研究所（以下「日立中研」という）による回折格子の製作技術とともに進歩している。このほど完成した260シリーズ赤外分光光度計（以下「260シリーズ」という。単独の場合は「260-10形」または「260-30形」という）は、新回折格子を採用して性能向上を図り、さらに現在までの技術をすべて集約して新機能を加え、ルーチン分析から研究用まで広い用途に応じられる普及形の赤外分光光度計である。

以下に260シリーズの構造、特長、仕様、測定例などについて述べる。

2. 構造

図2に260シリーズの基本構造を示す。

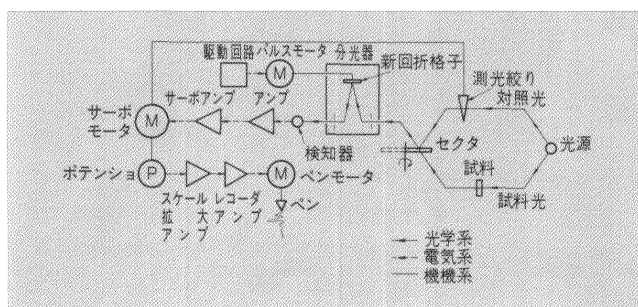


図2 260シリーズの基本系統図

光源には特殊コイル光源を採用した。この光源は取扱いを容易にするためユニット化され、交換が簡単にできるようになっている。

試料室は従来の日立赤外分光光度計の試料室と互換性をもたせてあるので、旧付属装置²⁾のほとんどが共用可能である。

回折格子は260シリーズから新規に採用されたものであるが、日立中研によって新たに開発されたもので、1枚の回折格子の面で溝本数（格子定数）を変えずに回折光効率

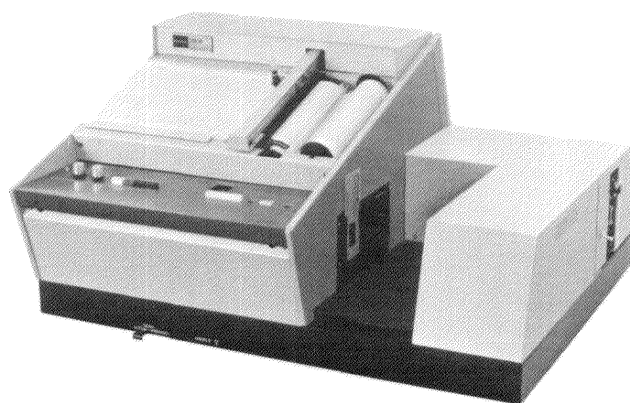


図1 260-10/30形日立赤外分光光度計

の高い位置（ブレイズ波長）を複数箇所設けたもので、測定波数領域において回折光効率がほぼ一様に高いものである。これは、 $4,000\sim 650\text{cm}^{-1}$ 領域（260-10形）では分解能の向上に寄与し、また、 $4,000\sim 400\text{cm}^{-1}$ 領域（260-30形）では従来、回折格子2枚でなければカバーできなかったのを1枚で済むようになった。

操作面においては、単純化を図り、手前に配置された操作パネルの押ボタンスイッチでスペクトルの標準記録からスケール拡大、吸光度リニア記録などが容易に切換えられるようになっている。また、データ処理を行う場合、容易にコンピュータとの接続ができるように外部入出力信号コネクタも設けられている。

3. 特長

- (1) 新開発の広帯域高エネルギー回折格子の採用により、全領域を高い分解能で記録することができる。

260-10形による $3,000\text{cm}^{-1}$ 付近のポリスチレンスペクトルの7本分離は、ローコストクラスにおいて最高のものである。

- (2) 全波数領域を1枚の新回折格子でカバーし、大切な指紋領域を回折格子の切換なしで測定できる。

260-30形は $4,000\sim 400\text{cm}^{-1}$ を1枚の回折格子でカバーしているから、従来の装置に見られるような回折格子切換による記録段差が生ぜず、常にきれいな正しいスペクトルを得ることができる。

- (3) 記録の拡大、縮小が自在である。

%Tスケールのスケールチェンジ機能($\times 1$, $\times 5$, $\times \frac{1}{4}$ ~ $\times 10$ 連続可変拡大)はこのクラス初のものであり、また、波数スケールにおいても押ボタンスイッチのワンタッチ操作で $\times \frac{1}{2}$ ~ $\times 80$ までスケールチェンジが可能で、目的に応じ種々のスケールでスペクトルを記録すること

* 日立製作所 那珂工場 光学装置設計部



ができる。

(4) 吸光度リニアの記録もできる。

赤外分光も定量測定分野に広がりつつあり、吸光度リニア記録が使われるケースが多くなってきている。本装置は%Tリニアから吸光度リニアに切換可能なため、定量測定に便利である(260-10形はオプション)。

(5) スピードサプレッションが可能。

吸収スペクトルの変化を検出して、波数送りの速度を自動的に制御することができるから、吸収変化の激しいガス試料の測定や短時間の定性記録に有効である。

(6) 優れた操作性。

従来の装置でも好評をいただいていたエンドレス波数送り機構(実用新案 公昭51-950)を採用し、ワンタッチによる連続試料測定や自動波数戻しによる繰返し記録などの自動操作の他に、手動でも波数を送ることができるため、記録前に試料の濃度チェックやベンがスケールアウトしないかどうかの確認ができる。

(7) 従来の付属装置はほとんど共用可能。

セルホルダをはじめ、試料室周辺の寸法は従来の日立赤外分光光度計に合わせてあるから、付属装置のほとんどは共用できる。また、記録紙寸法は従来の285形及び、295形日立赤外分光光度計のものと同一にしてある。

4. 主な仕様

波数範囲	260-10形 4,000~650cm ⁻¹ 260-30形 4,000~400cm ⁻¹
光 学 系	ダブルビーム、光学的零位法 単分光リトロー形 フィルタ・グレーティング分光器
光 源	特殊コイル光源, 1,100℃ 消費電力 45W
試 料 室	光路長 150mm, 光軸高さ 78mm 両光束間隔 110mm
回折格子	マルチプルブレード形
フィルタ	干渉フィルタ
検 知 器	二重窓形高感度真空熱電対

項目	形式	260-10形	260-30形
分 解 能		1.5cm ⁻¹ /1,000cm ⁻¹ (最高 0.4cm ⁻¹ /1,000cm ⁻¹)	2cm ⁻¹ /1,000cm ⁻¹ (最高 0.6cm ⁻¹ /1,000cm ⁻¹)
波数精度		4,000~2,000cm ⁻¹ ±6cm ⁻¹ 2,000~650cm ⁻¹ ±3cm ⁻¹	4,000~2,000cm ⁻¹ ±5cm ⁻¹ 2,000~400cm ⁻¹ ±2cm ⁻¹
%T 精度		±1%	±0.5%
再 現 性		0.5%	0.5%
記録時間		2.5分~58時間 標準 5分(定性) 10分(定量)	3分~64時間 標準 6分(定性) 12分(定量)

波数スケール拡大 ×1/2, ×1, ×2, ×4, ×5, ×8,
×10, ×20, ×40, ×80

%Tスケール拡大 ×1, ×5, ×1/4~×10連続可変

吸光度記録 ABS, 0~1.00 (260-10形はオプション)

外部入出力信号コネクタ付 (260-10形はオプション)

5. 測定例

図3~8に装置の性能を示す吸収スペクトルを示す。

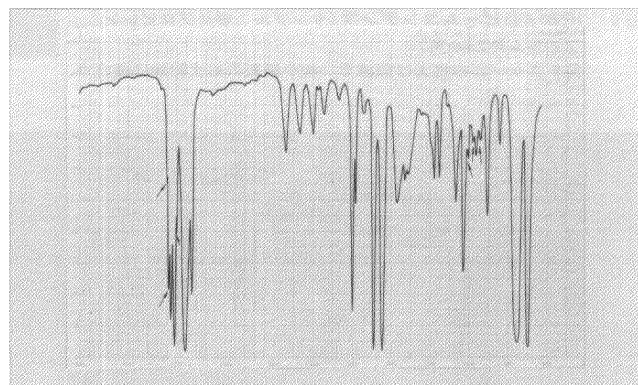


図3 260-10形の測定例(サンプル:ポリスチレンフィルム)
矢印部の分離はこのクラス最高のものである。

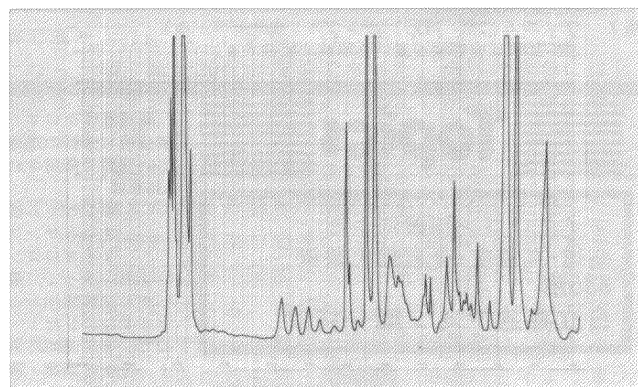


図4 吸光度の記録(260-30形)(サンプル:ポリスチレンフィルム)
吸光度0~1.00の記録である。定量測定に便利である。

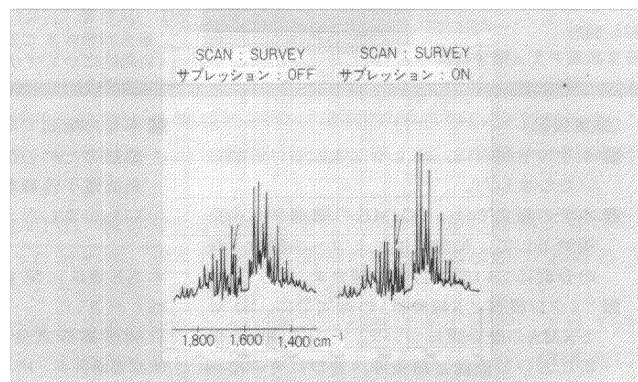


図5 テストシグナルによる大気中の水蒸気(260-10形による)
矢印部を比較するとスピードサプレッションONの効果がよくわかる。

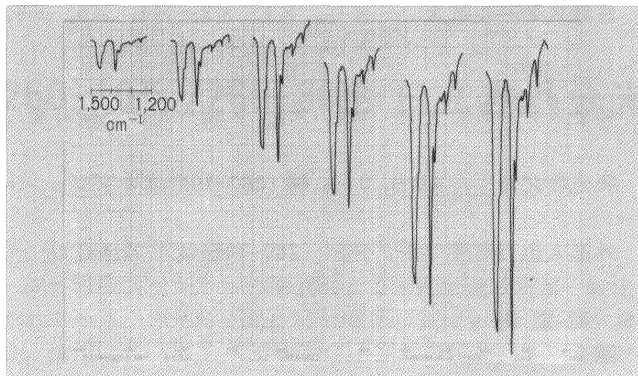


図6 IRB-4形ビームコンデンサ(サンプル:ポリプロピレン、フィルム片2mm角)
%Tスケールの拡大は微細で、微小吸収の拡大記録に役立つ。

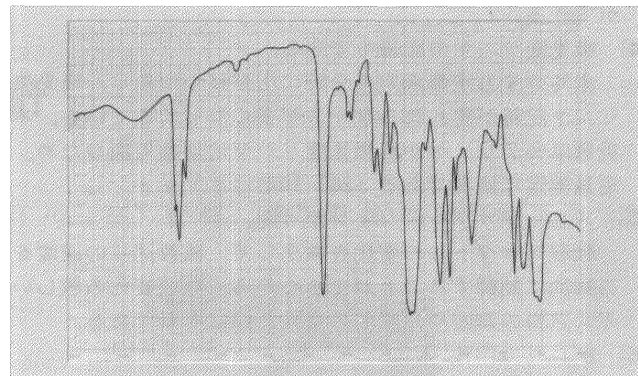


図8 MIR-4形全反射装置(260-30形)(サンプル:1-φビニール系)
260-30形はどんな付属装置と組合わせて使用しても忠実にきれいなデータが得られる。

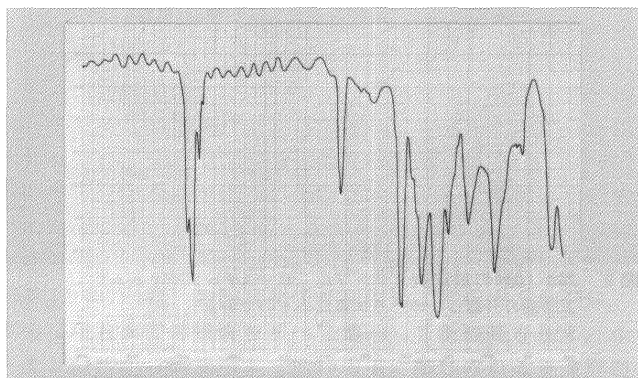


図7 フィルム(260-10形)(サンプル:塩化ビニール)
260-10形は全領域を高い分解能で記録する。

6. おわりに

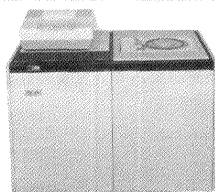
以上、普及形の日立赤外分光光度計 260 シリーズの概要を述べた。一般に赤外分光光度計は操作が複雑で難しいものとされてきたが、260 シリーズは操作の単純化を図り、誰にでも手軽に測定できるようになっている。GC-IR¹⁾はもとより、最近では定量の分野にも用途が広がりつつあり、また、わずかではあるが医学分野⁴⁾への応用もあり、これから新分野への発展に期待したい。

参考文献

- 1) テクニカルデータIR No.2 GC-IRによる測定例
- 2) テクニカルデータIR No.3 285形の紹介と測定例
- 3) テクニカルデータIR No.4 高分子及びプラスチックなど
- 4) テクニカルデータIR No.5 260新シリーズの測定例

Topics

マイクロコン制御による 高速・高感度・全自動化装置 835形 日立高速アミノ酸分析計



835-50形
日立高速アミノ酸分析計

高速液体クロマトグラフィの発展と共に、アミノ酸分析も分析の迅速化、高感度化が急速に進歩し、広い分野で使用されることが期待されます。

835形は

ワンカラム法
オートサンプリング機構
マイクロコンピュータ

の採用によって、最大72検体の連続分析ができます。しかも試料添加から分析結果のプリントアウトまで、マイクロコンピュータがすべて自動的に行ないますので、常に高精度の測定データが得られます。

1. 分析の高速・高感度化

- (1) ワンカラム法の採用により、カラム再生に要する時間を含めて、1検体当たりたん白アミノ酸を1時間、生体アミノ酸を4時間で高速分析できます。
- (2) 最小検出感度30 pico molの検出ができます。

2. 便利なオートサンプリング機構

- (1) 試料管(容量0.5ml)に試料を入れておけば、最大72検体まで分析計のプログラムによって順次自動的にサンプリングされ、分析がエンドレスに

続けられます。

- (2) オートサンブラは、冷却水を循環させる機構も備えており、生体試料の分析にも最適です。

3. マイクロコンピュータによる本体制御

- (1) 本体操作は、入力プログラムに従い、マイクロコンピュータで集中制御され、操作は極めて簡単です。
- (2) プログラム入力は、磁気カードでワンタッチでできます。もちろん、キーボードからの入力もできます。
- (3) エラー検出と処理機能があるので、誤操作防止、動作異常に対して安全管理されています。

4. 計算結果のレポート作成

- (1) グラフィックプリンタのチャート上に、クロマトグラム・データ処理条件・計算結果が打ち出されるので、アミノ酸分析結果のレポートが作成されます。
- (2) 打ち出しフォーマットが豊富で、アミノ酸名・N MOL・N GRAM 計算結果などが打ち出されます。

〈編集後記〉

- 本号の巻頭言は、江上不二夫先生にお願いいたしました。
- 本号の報文では、GC/MSの細菌学への応用例として、矢野先生にミコール酸分子種の分析について報告して頂きました。
- 「ミクロ観察とX線分析」の報文では、SEMとXMAの融合機について、その像観察と分析における機能と諸条件、並びにその応用例について報告しました。

■ 本号の解説では、トータルシステム電子顕微鏡のための付属装置 H-5010/H-7010 形走査電子像観察装置について、詳細に解説いたしました。

本 NEWS に関するお問合せは、下記へご連絡ください。
日製産業株式会社 精機部
東京都港区虎ノ門1丁目26番地5号 第17森ビル
〒150 TEL (03) 501-5311

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
AUTUMN 1977, Vol.20, No.3

発行 昭和52年10月1日
(年4回 発行)
発行人 湯川 清
編集人 菱田真三郎 岩井孝之
発行所 株式会社 日立製作所 計測器事業部
東京都港区虎ノ門1丁目26番地5号 第17森ビル
〒105 TEL (03) 501-7201
印刷所 日立印刷株式会社